(19) Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) **EP 2 069 787 B1**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT**

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung:
06.03.2019 Patentblatt 2019/10

(21) Anmeldenummer: **07818502.2**

(22) Anmeldetag: **27.09.2007**

(51) Int Cl.:
B01L 3/00 *(2006.01)*

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP2007/008419

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 2008/037469 (03.04.2008 Gazette 2008/14)

(54) **ROTIERBARES TESTELEMENT**

ROTATABLE TEST ELEMENT

ELÉMENT D'ESSAI ROTATIF

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL PL PT RO SE SI SK TR

(30) Priorität: **27.09.2006 EP 06020219**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
17.06.2009 Patentblatt 2009/25

(73) Patentinhaber:
- **Roche Diagnostics GmbH**
  68305 Mannheim (DE)
  Benannte Vertragsstaaten:
  DE
- **F. Hoffmann-La Roche AG**
  4070 Basel (CH)
  Benannte Vertragsstaaten:
  AT BE BG CH CY CZ DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL PL PT RO SE SI SK TR

(72) Erfinder:
- **BOEHM, Christoph**
  68519 Viernheim (DE)
- **ORANTH, Norbert**
  69493 Hirschberg (DE)
- **SPINKE, Juergen**
  64653 Lorsch (DE)

(56) Entgegenhaltungen:
WO-A-99/58245
WO-A-02/074438
WO-A2-2005/009581
US-A- 5 242 606
US-A1- 2003 207 457
US-A1- 2004 265 171
US-A1- 2005 109 396

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt kann jedermann nach Maßgabe der Ausführungsordnung beim Europäischen Patentamt gegen dieses Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

EP 2 069 787 B1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Testelement, das im Wesentlichen scheibenförmig und eben ist und um eine zentrale Achse, die senkrecht zur scheibenförmigen Testelementebene liegt, rotierbar ist, enthaltend eine Probenaufgabeöffnung zur Aufgabe einer flüssigen Probe, eine kapillaraktive Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist und einen Probenkanal, der von der Probenaufgabeöffnung zur kapillaraktiven Zone reicht. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Bestimmung eines Analyten mit Hilfe des Testelements.

[0002] Prinzipiell kann man die Systeme, die zur Analyse von flüssigen Probenmaterialien oder von Probenmaterialien, die in flüssige Form überführt werden können, in zwei Klassen unterteilen: zum einen gibt es Analysensysteme, die ausschließlich mit sog. Nassreagenzien arbeiten, zum anderen gibt es Systeme, die mit sog. Trockenreagenzien arbeiten. Insbesondere in der medizinischen Diagnostik, aber auch in der Umwelt- und Prozessanalytik, haben sich im Bereich der fest eingerichteten Labors vor allem die ersteren Systeme durchgesetzt, während letztere Systeme vor allem im Bereich der Analytik "vor Ort" eingesetzt werden.

[0003] Im Bereich der medizinischen Diagnostik werden Analysensysteme mit Trockenreagenzien insbesondere in Form von sog. Testträgern, z. B. Teststreifen angeboten. Prominente Beispiele hierfür sind Teststreifen für die Bestimmung des Blutzuckerwertes oder Teststreifen für Urinuntersuchungen. Solche Testträger integrieren in der Regel mehrere Funktionen (z. B. die Bevorratung von Reagenzien in getrockneter Form oder - wenn auch seltener - in Lösung; die Abtrennung von unerwünschten Probenbestandteilen, insbesondere von roten Blutkörperchen aus Vollblut; bei Immunoassays, die sog. Bound-Free-Trennung; die Dosierung von Probenvolumina; den Transport von Probenflüssigkeit von außerhalb eines Gerätes in ein Gerät hinein; die Steuerung der zeitlichen Abfolge von einzelnen Reaktionsschritten; usw.). Die Funktion des Probentransports wird dabei oft mittels saugfähiger Materialien (z. B. Papiere oder Vliese), mittels Kapillarkanälen oder durch Anwendung äußerer Triebkräfte (wie z. B. Druck; Saugen) oder mittels Zentrifugalkraft bewerkstelligt. Scheibenförmige Testträger, sog. LabDiscs oder optische BioDiscs, führen die Idee des gesteuerten Probentransports mittels Zentrifugalkraft (Fliehkraft) fort. Solche scheibenförmigen, CompactDisc-ähnlichen Testträger ermöglichen die Miniaturisierung durch Nutzung von mikrofluidischen Strukturen und gleichzeitig die Parallelisierung von Vorgängen durch wiederholtes Aufbringen identischer Strukturen für die parallele Abarbeitung ähnlicher Analysen aus einer Probe bzw. identische Analysen aus unterschiedlichen Proben. Gerade im Bereich der optischen BioDiscs ist die Integration von optisch gespeicherten digitalen Daten für die Identifizierung der Testträger oder die Steuerung der Analysensysteme auf den optischen BioDiscs möglich.

[0004] Neben der Miniaturisierung und Parallelisierung von Analysen und der Integration von digitalen Daten auf optische Discs haben BioDiscs im Allgemeinen den Vorteil, dass sie mittels etablierter Herstellverfahren hergestellt und mittels etablierter Auswertetechnologie gemessen werden können. Bei den chemischen und biochemischen Komponenten solcher optischen BioDiscs ist meist ein Rückgriff auf bekannte Chemie - und Biochemie-Komponenten - möglich. Nachteilig an den rein auf Zentrifugal- und Kapillarkräften beruhenden optischen LabDiscs oder Biodiscs ist, dass die Immobilisierung von Reagenzien schwer ist und die Nachweisgenauigkeit leidet. Insbesondere bei Nachweissystemen, die auf spezifischen Bindereaktionen beruhen, wie z. B. Immunoassays, fehlt im Vergleich zu herkömmlichen Teststreifensystemen die Volumenkomponente, insbesondere bei der sog. Bound-Free-Trennung.

[0005] Aus diesem Grund gibt es vor allem im Bereich der Immunoassays seit kurzem Ansätze, Hybride aus herkömmlichen Teststreifen und BioDiscs zu etablieren. Das Ergebnis sind BioDiscs mit Kanälen und kanalartigen Strukturen für den Flüssigkeitstransport einerseits und voluminösen saugfähigen Materialien in diesen Strukturen (zumindest teilweise) andererseits.

[0006] WO 2005/001429 (Phan et al.) beschreibt optische Bio-Disks, die in Teilen des Kanalsystems Membranstücke als Reagenzienträger aufweisen. Die Reagenzien werden von einer der Disk zugeführten Flüssigkeit gelöst und führen so zu gepufferten Reagenzlösungen, die dann mit der Probe in Kontakt gebracht werden.

[0007] Aus WO 2005/009581 (Randall et al.) sind optische Bio-Disks bekannt, die zum Bewegen einer Probenflüssigkeit, zum Abtrennen partikulärer Probenbestandteile, zum Tragen von Reagenzien und zur Analyse der Probe saugfähige Membranen oder Papiere enthalten. Die Probe wird nahe dem äußeren Rand der Bio-Disk zunächst auf eine Blutabtrennmembran aufgebracht und wandert radial durch diese hindurch zu einem Reagenzienpapier, das näher am Zentrum der Bio-Disk untergebracht ist. Danach wird die Probe wieder radial nach außen, d. h. vom Zentrum der Bio-Disk weg, bewegt und durchströmt eine so genannte Analysenmembran. Die Bewegung nach außen erfolgt dabei über Chromatographie, die durch Rotation der Bio-Disk und die dadurch auf die Probe wirkende Zentrifugalkraft unterstützt wird.

[0008] US 2002/0076354 A1 (Cohen) offenbart optische Bio-Disks, die neben einem Kanalsystem für den Transport einer flüssigen Probe eine so genannte "Abfangschicht" (engl. "capture layer") aufweisen. Letztere kann beispielsweise aus Nitrozellulose bestehen. Die "Abfangschicht" wird mit Hilfe von Zentrifugalkräften beim Rotieren der Disk durchströmt.

[0009] US 2005/0014249 (Staimer et al.) und US 2005/0037484 (Staimer et al.) beschreiben optische Bio-Disks mit in Kanälen integrierten porösen Materialien, die als chromatographische Trennmedien wirken. Die Probenflüssigkeit wird mittels Zentrifugalkraft von einer zentrumsnahen Probenaufgabestelle durch die Trennmedien nach außen gezwun-

gen und fließt anschließend nach Passieren eines Filters wieder in einem Kanal radial nach innen.

[0010] US 2004/0265171 (Pugia et al.) beschreibt ein Testelement mit Flüssigkeitskanälen, bei dem Probenflüssigkeit mittels eines Wechselspiels von Kapillarkraft und Zentrifugalkraft transportiert wird. Innerhalb eines Flüssigkeitskanals kann ein Nitrocellulosestreifen vorgesehen sein, der ein Agglutinationsreagenz trägt, das mit dem Analyten reagiert und so zur Bildung von sogenannten Banden führen kann, die schließlich optisch vermessen werden können und so zur Bestimmung einer Analytkonzentration in der Probe dienen. Mit Hilfe des Nitrocellulosestreifens ist es möglich, die Probenflüssigkeit sowohl parallel zur Zentrifugalkraft als auch der Zentrifugalkraft entgegengesetzt zu transportieren, insbesondere wenn ein weiteres absorptionsfähiges Material, beispielsweise ein saugfähiges Nitrocellulosepapier, zur Unterstützung der Saugwirkung verwendet wird.

[0011] WO 99/58245 (Larsson et al.) beschreibt mikrofluidische Testelemente, bei denen die Bewegung der Flüssigkeiten durch unterschiedliche Oberflächen mit unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften, wie z. B. unterschiedliche Hydrophilie, gesteuert wird.

[0012] US 5,242,606 (Braynin et al.) offenbart kreisförmige, scheibenartige Rotoren für Zentrifugen, die über Kanäle und Kammern zum Transport von Probenflüssigkeiten verfügen.

[0013] Nachteilig an den Konzepten des Standes der Technik ist, dass gerade für spezifische Bindungsassays, wie z. B. Immunoassays eine gezielte Steuerung der Reaktions- und Verweilzeiten der Probenflüssigkeit nach Aufnahme der Reagenzien und nach dem Einströmen in die poröse, saugfähige Matrix nicht möglich ist.

[0014] Aufgabe der Erfindung ist es, die Nachteile des Standes der Technik zu beseitigen.

[0015] Diese Aufgabe wird durch den Gegenstand der Erfindung gelöst.

[0016] Gegenstand der Erfindung ist ein Testelement gemäß Anspruch 1, ein System gemäß Anspruch 11 sowie ein Verfahren gemäß Anspruch 7. Vorteilhafte Ausgestaltungen und bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sind Gegenstand der abhängigen Patentansprüche.

[0017] Das erfindungsgemäße Testelement ist im Wesentlichen scheibenförmig und eben. Es ist um eine zentrale Achse, die senkrecht zur scheibenförmigen Testelementebene innerhalb des Testelements liegt, rotierbar. Typischerweise ist das Testelement eine kreisrunde Scheibe, vergleichbar einer Compactdisc. Die Erfindung ist jedoch nicht auf diese Form der Scheibe beschränkt, sondern kann ohne weiteres auch bei nicht-symmetrischen oder nichtkreisförmigen Scheiben Verwendung finden.

[0018] Als Bestandteile enthält das Testelement zunächst eine Probenaufgabeöffnung, in die eine flüssige Probe pipettiert oder auf andere Weise eingebracht werden kann. Die Probenaufgabeöffnung ist achsennah (d. h. nahe am Zentrum der Scheibe).

Die Probenaufgabeöffnung kann dabei direkt in einen Probenkanal münden. Es ist jedoch auch möglich, dass die Probenaufgabeöffnung zunächst in ein dahinter liegendes Reservoir mündet, in das die Probe einströmt, bevor sie in den Probenkanal weiterfließt. Durch geeignete Dimensionierung kann dafür gesorgt werden, dass die Probe von der Probenaufgabenöffnung ohne weiteres Zutun in den nachfolgenden fluidischen Strukturen hineinströmt. Dazu kann eine Hydrophilisierung der Oberflächen der fluidischen Strukturen notwendig sein und/oder die Verwendung von Strukturen, die das Entstehen von Kapillarkräften fördern. Es ist jedoch auch möglich, das Befüllen der fluidischen Strukturen des erfindungsgemäßen Testelements aus der Probenaufgabeöffnung erst nach Einwirken einer äußeren Kraft, vorzugsweise einer Zentrifugalkraft, zu ermöglichen.

[0019] Weiterhin enthält das Testelement eine kapillaraktive Zone in Form einer porösen, saugfähigen Matrix, die zumindest einen Teil der flüssigen Probe aufnimmt. Die kapillaraktive Zone weist ein achsenfernes erstes Ende und ein achsennahes zweites Ende auf.

[0020] Das Testelement besitzt darüber hinaus einen Probenkanal, der von der Probenaufgabeöffnung zum achsenfernen ersten Ende der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, reicht. Der Probenkanal durchläuft dabei mindestens einmal einen achsennahen Bereich, der näher an der zentralen Achse liegt als das achsenferne erste Ende der kapillaraktiven Zone.

[0021] Wesentlich am Testelement der vorliegenden Erfindung ist, dass die kapillaraktive Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, ein achsennahes zweites Ende aufweist. Das achsenferne erste Ende der kapillaraktiven Zone steht dabei mit dem Probenkanal, in dem die Probe durch Kapillarkräfte und/oder Zentrifugalkräfte und/oder andere externe Kräfte, wie Über- oder Unterdruck, bewegt werden kann, in Kontakt. Sobald die flüssige Probe - ggf. nach Aufnahme von Reagenzien und/oder Verdünnungsmedien und/oder dem Ablaufen von Vorreaktionen - das achsenferne erste Ende der kapillaraktiven Zone erreicht, wird sie in die in sie aufgenommen und durch die Kapillarkräfte (die im Falle einer porösen saugfähigen Matrix auch als Saugkräfte bezeichnet werden können) durch sie hindurch transportiert.

[0022] Die kapillaraktive Zone ist eine poröse, saugfähige Matrix, insbesondere ein Papier, eine Membran oder ein Vlies.

[0023] Die kapillaraktive Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, enthält eine oder mehrere Zonen mit immobilisierten Reagenzien.

[0024] In der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse saugfähige Matrix ist, sind spezifische Bindereagenzien, beispielsweise spezifische Bindepartner, wie Antigene, Antikörper, (Poly-)Haptene, Streptavidin, Polystreptavidin, Ligan-

den, Rezeptoren, Nukleinsäurestränge ("capture probes") und dergleichen mehr, immobilisiert. Sie dienen dazu, aus der durch die kapillaraktive Zone fließenden Probe gezielt den Analyten oder vom Analyten abgeleitete und mit diesem in Beziehung stehende Spezies abzufangen. Diese Bindepartner liegen in Form von Linien, Punkten, Mustern in oder auf dem Material der kapillaraktiven Zone immobilisiert vor. So kann beispielsweise im Fall von Immunoassays ein Antikörper gegen den Analyten auf der Oberfläche der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, immobilisiert vorliegen, der dann den Analyten (in diesem Fall ein Antigen oder Hapten) aus der Probe abfangen und ebenfalls in der kapillaraktiven Zone immobilisieren. Der Analyt kann dabei durch weitere Reaktionen, beispielsweise durch weiteres Inkontaktbringen mit einem markierten bindefähigen Partner, detektierbar gemacht werden, beispielsweise durch ein visuell, optisch oder fluoreszenzoptisch nachweisbares Label.

[0025] In einer bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Testelements grenzt die kapillaraktive Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, mit dem achsennahen zweiten Ende an ein weiteres saugfähiges Material oder eine saugfähige Struktur, so dass dieses bzw. diese Flüssigkeit aus der Zone aufnehmen kann. Typischerweise überlappen die poröse saugfähige Matrix und das weitere Material sich zu diesem Zweck geringfügig. Das weitere Material bzw. die weitere saugfähige Struktur dient dabei einerseits zur Unterstützung der Saugwirkung der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse saugfähige Matrix ist, andererseits als Aufnahmezone für Flüssigkeit, die bereits die kapillaraktive Zone durchlaufen hat. Das weitere Material kann dabei aus denselben oder unterschiedlichen Materialien wie die Matrix bestehen. Beispielsweise kann die Matrix eine Membran sein und das weitere saugfähige Material ein Vlies oder ein Papier. Andere Kombinationen sind natürlich ebenso möglich.

[0026] Das erfindungsgemäße Testelement zeichnet sich in einer bevorzugten Ausführungsform dadurch aus, dass der Probenkanal Zonen unterschiedlicher Dimensionen und/oder für unterschiedliche Funktionen enthält. Beispielsweise kann der Probenkanal eine Zone enthalten, die in der Probe lösliche oder in der Probe suspendierbare Reagenzien enthält. Diese können beim Ein- oder Durchströmen der flüssigen Probe in dieser gelöst oder suspendiert werden und eine Reaktion mit dem Analyten in der Probe oder mit anderen Probenbestandteilen eingehen.

[0027] Die unterschiedlichen Zonen im Probenkanal können sich auch dadurch unterscheiden, dass es Zonen mit Kapillaraktivität gibt und solche ohne. Darüber hinaus können Zonen mit hoher Hydrophilie und niedriger Hydrophilie enthalten sein. Die einzelnen Zonen können quasi nahtlos ineinander übergeben oder durch gewisse Barrieren, beispielsweise Ventile, insbesondere nicht schließende Ventile, wie geometrische Ventile oder Hydrophobsperren voneinander getrennt sein.

[0028] Die Reagenzien im Probenkanal liegen bevorzugt in getrockneter oder lyophilisierter Form vor. Es ist jedoch auch möglich, dass Reagenzien in flüssiger Form im erfindungsgemäßen Testelement vorliegen.

[0029] Die Reagenzien können in an sich bekannter Weise in das Testelement eingebracht werden. Bevorzugt enthält das Testelement mindestens zwei Schichten, eine Bodenschicht, in die die fluidischen Strukturen eingebracht sind und eine Deckschicht, die in der Regel außer den Einlassöffnungen für Flüssigkeiten und den Entlüftungsöffnungen keine weiteren Strukturen enthält. Das Einbringen von Reagenzien während der Herstellung des Testdevices erfolgt in der Regel bevor das Oberteil des Testelements (Deckschicht) auf das Unterteil (Bodenschicht) aufgebracht wird. Zu diesem Zeitpunkt liegen die fluidischen Strukturen im Unterteil offen, so dass eine Dosierung der Reagenzien in flüssiger oder getrockneter Form ohne weiteres möglich ist. Das Einbringen der Reagenzien kann dabei beispielsweise durch Drucken oder Dispensieren erfolgen. Es ist auch möglich, die Reagenzien dadurch in das Testelement einzubringen, dass sie in saugfähigen Materialien, wie Papieren, Vliesen oder Membranen imprägniert in das Testelement eingelegt werden. Nach dem Platzieren der Reagenzien und dem Einlegen der saugfähigen Materialien, beispielsweise der porösen, saugfähigen Matrix (Membran) und gegebenenfalls weiterer saugfähiger Materialien (Waste-Vlies etc.) werden Ober- und Unterteil des Testelements miteinander verbunden, beispielsweise verklipst, verschweißt, verklebt und dergleichen mehr.

[0030] Alternativ ist es möglich, dass die Bodenschicht neben den fluidischen Strukturen auch die Einlassöffnungen für Flüssigkeiten und die Entlüftungsöffnungen aufweist. In diesem Fall kann die Deckschicht völlig ohne Öffnungen ausgebildet sein, gegebenenfalls mit Ausnahme einer zentralen Aussparung zur Aufnahme einer Antriebseinheit. Besonders in diesem Fall kann das Oberteil einfach aus einer Kunststofffolie bestehen, die auf das Unterteil aufgeklebt oder mit diesem verschweißt wird.

[0031] Der Probenkanal enthält eine Zone zum Abtrennen partikulärer Bestandteile aus der flüssigen Probe. Insbesondere falls als Probenmaterial Blut oder andere Körperflüssigkeiten mit zellulären Bestandteilen verwendet werden, dient diese Zone dem Abtrennen der zellulären Probenbestandteile. Aus Blut kann so durch Abtrennen insbesondere der roten Blutkörperchen (Erythrozyten) nahezu farbloses Plasma oder Serum gewonnen werden, das sich für nachfolgende visuelle oder optische Nachweismethoden in der Regel besser eignet als das stark gefärbte Blut.

[0032] Vorzugsweise erfolgt das Abtrennen zellulärer Probenbestandteile durch Zentrifugation, d. h. durch schnelles Rotieren des Testelements nach Befüllen mit flüssiger Probe. Das erfindungsgemäße Testelement enthält zu diesem Zweck geeignet dimensionierte und geometrisch gestaltete Kanäle und/oder Kammern. Insbesondere enthält das Testelement für die Abtrennung von zellulären Blutbestandteilen eine Erythrozytensammelzone (Erythrozytenkammer oder Erythrozytenfalle) und eine Serum- bzw. Plasmasammelzone (Serum- bzw. Plasmakammer).

[0033] Zur Steuerung des Fließens der Probenflüssigkeit im Testelement kann dieses vor allem im Probenkanal Ventile, insbesondere sogenannte nicht-schließende (non-closing) oder geometrische Ventile oder Hydrophobsperren, enthalten. Diese Ventile dienen als Kapillarstopps. Durch sie kann sichergestellt werden, dass eine gezielte zeitliche und räumliche Steuerung des Probenflusses durch den Probenkanal und die einzelne Zone des Testelements möglich wird.

[0034] Insbesondere kann der Probenkanal eine Probendosierzone aufweisen, die ein genaues Abmessen der - zunächst im Überschuss aufgegebenen - Probe erlaubt. In einer bevorzugten Ausführungsform reicht die Probendosierzone von der Probenaufgabeöffnung über ein entsprechendes Stück eines Probenkanals bis zu einem Ventil in der Fluidikstruktur, insbesondere einem geometrischen Ventil oder einer Hydrophobsperre. Die Probenaufgabeöffnung kann dabei zunächst einen Überschuss an Probenmaterial aufnehmen. Die Probe fließt entweder getrieben durch Kapillarkräfte oder durch Zentrifugation angetrieben von der Probenaufgabenzone in die Kanalstruktur und füllt diese bis zum Ventil. Überschüssige Probe bleibt dabei zunächst in der Probenaufgabezone. Erst wenn die Kanalstruktur bis zum Ventil gefüllt ist, wird eine an die Probenaufgabezone angrenzende und vom Probenkanal abzweigende Probenüberschusskammer befüllt, beispielsweise durch Kapillarkräfte oder durch Zentrifugieren des Testelements. Dabei muss sichergestellt werden, dass durch geeignete Wahl des Ventils das abzumessende Probenvolumen vorerst nicht über das Ventil hinweg transportiert wird. Sobald überschüssige Probe in der entsprechenden Überlaufkammer abgefangen ist, befindet sich zwischen dem Ventil des Probenkanals auf der einen Seite und dem Eingang zur Probenüberlaufkammer auf der anderen Seite ein genau definiertes Probenvolumen. Durch Anlegen externer Kräfte, insbesondere durch Starten einer weiteren Zentrifugation wird dieses definierte Probenvolumen nun über das Ventil hinaus bewegt. Alle fluidischen Bereiche, die nach dem Ventil liegen und mit der Probe in Kontakt kommen, werden nun zunächst mit einem genau definierten Probenvolumen befüllt.

[0035] Der Probenkanal kann weiterhin einen Zufluss für weitere Flüssigkeiten außer der Probenflüssigkeit aufweisen. Beispielsweise kann in den Probenkanal ein zweiter Kanal münden, der z. B. mit einer Wasch- oder Reagenzflüssigkeit befüllbar ist.

[0036] Das erfindungsgemäße System aus Messgerät und Testelement dient zur Bestimmung eines Analyten in einer flüssigen Probe. Das Messgerät enthält dabei unter anderem zumindest einen Antrieb für die Rotation des Testelements und eine Auswerteoptik zum Auswerten des visuellen oder optischen Signals des Testelements.

[0037] Vorzugsweise kann die Optik des Messgeräts zur Fluoreszenzmessung mit ortsaufgelöster Detektion eingesetzt werden. Bei zweidimensionaler, d. h. flächiger Auswerteoptik, wird typischerweise zur Beleuchtung des Nachweisbereichs des Testelements und ggf. der Anregung von optisch detektierbaren Markierungen eine LED oder ein Laser eingesetzt. Die Detektion des optischen Signals erfolgt mittels CMOS oder CCD (typischerweise mit 640 x 480 Pixel). Der Strahlengang ist direkt oder gefaltet (z. B. über Spiegel bzw. Prismen).

[0038] Bei anamorphotischer Optik wird typischerweise die Beleuchtung bzw. Anregung mittels Beleuchtungsstrich, der den Nachweisbereich des Testelements vorzugsweise senkrecht zu den Nachweis- und Kontrollstrichen beleuchtet, bewirkt. Die Detektion kann hier über eine Diodenzeile erfolgen. Für die Beleuchtung und Auswertung der 2. Dimension kann in diesem Fall die Drehbewegung des Testelements ausgenutzt werden, um so mit der Diodenzeile über den auszuwertenden flächigen Bereich des Testelements zu scannen.

[0039] Als Antrieb zum Rotieren und Positionieren des Testelements kann ein DC-Motor mit Encoder oder ein Schrittmotor eingesetzt werden.

[0040] Vorzugsweise wird die Temperierung des Testelements im Gerät indirekt vorgenommen, beispielsweise durch Heizen oder Kühlen der Platte, auf die das scheibenförmige Testelement im Gerät aufliegt. Die Messung der Temperatur erfolgt vorzugsweise kontaktlos.

[0041] Das erfindungsgemäße Verfahren dient zum Nachweis eines Analyten in einer flüssigen Probe. Dabei wird die Probe zunächst in die Probenaufgabeöffnung des Testelements aufgegeben. Anschließend wird das Testelement um seine zentrale Achse rotiert. Dabei wird die Probe von der Probenaufgabeöffnung zum achsenfernen Ende der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, transportiert. Die Rotation des Testelements wird dann soweit verlangsamt bzw. gestoppt, dass die Probe oder ein beim Durchströmen des Testelements aus der Probe gewonnenes Material (beispielsweise ein Gemisch der Probe mit Reagenzien, eine durch Vorreaktionen mit Reagenzien aus dem Testelement veränderte Probe, eine von bestimmten Bestandteilen befreite Probe wie Serum oder Plasma aus Vollblut nach Abtrennen der Erythrozyten, etc.) vom achsenfernen zum achsennahen Ende der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, transportiert wird. Der Analyt wird schließlich in der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, oder einer ihr nachgelagerten Zone visuell oder optisch nachgewiesen.

[0042] Der Start der Wanderung der Probe (oder eines aus der Probe gewonnen Materials) durch die kapillaraktive Zone kann durch gezieltes Verlangsamen bzw. Stoppen der Rotation des Testelements zeitlich genau festgelegt und gesteuert werden. Nur wenn der Betrag Kapillarkraft (Saugkraft) in der kapillaraktiven Zone den Betrag der ihr entgegengesetzt gerichteten Zentrifugalkraft übersteigt, ist ein Bewegen der Probe in und durch kapillaraktive Zone möglich. Der Flüssigkeitstransport in der kapillaraktiven Zone lässt sich so gezielt starten. Beispielsweise kann so eine eventuelle Vorreaktion oder Vorinkubation der Probe oder eine Temperierung der Probe abgewartet werden, bevor die Rotation

des Testelements so weit verlangsamt bzw. gestoppt wird, dass ein Einströmen der Probe in die kapillaraktive Zone ermöglicht wird.

[0043] Der Transport der Probe (oder eines aus der Probe gewonnen Materials) durch die kapillaraktive Zone kann durch erneute Rotation des Testelementes um seine zentrale Achse gezielt verlangsamt oder gestoppt werden. Die bei der Rotation auftretenden Zentrifugalkräfte wirken der Kapillarkraft, die die Probenflüssigkeit vom achsenfernen Ende der kapillaraktiven Zone hin zum achsennahen Ende bewegen, entgegen. So ist eine gezielte Steuerung, insbesondere Verlangsamung, der Flussgeschwindigkeit der Probe in der kapillaraktiven Zone möglich, bis hin zur Umkehrung der Flussrichtung. Auf diese Weise kann beispielweise die Verweildauer der Probe in der kapillaraktiven Zone gesteuert werden.

[0044] Insbesondere ist es also möglich, die mit dem erfindungsgemäßen Testelement und Verfahren die Wanderungsrichtung der flüssigen Probe und/oder der weiteren Flüssigkeit durch die kapillaraktive Zone durch die Rotation des Testelements umzukehren, wobei dies auch mehrfach möglich ist, um so ein Hin- und Herbewegen der Flüssigkeit zu erreichen. Durch ein gezieltes Wechselspiel von Kapillarkräften, die die Flüssigkeit in der kapillaraktiven Zone von außen (d. h. vom achsenfernen Ende) nach innen (d. h. zum achsennahen Ende) transportieren, und entgegengesetzt gerichteten Zentrifugalkräften ist es unter anderem möglich, die Bindungseffizienz der Bindereaktionen in der kapillaraktiven Zone zu steigern, lösliche Reagenzien besser zu lösen und mit der Probe oder anderen Flüssigkeiten zu durchmischen, oder die Wascheffizienz ("bound-free separation") bei Affinitätsassays zu erhöhen.

[0045] Insbesondere im Zusammenhang mit Immunoassays kann der Nachweis nach dem Prinzip des Sandwichassays oder in Form eines kompetitiven Tests durchgeführt werden.

[0046] Es ist auch möglich, dass nach der Rotation des Testelements eine weitere Flüssigkeit auf das Testelement aufgegeben wird, die nach der Probe vom achsenfernen zum achsennahen Ende der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, transportiert wird.

[0047] Die weitere Flüssigkeit kann insbesondere ein Puffer, bevorzugt ein Waschpuffer, oder eine Reagenzflüssigkeit sein. Durch die Zugabe der weiteren Flüssigkeit kann insbesondere im Zusammenhang mit Immunoassays ein im Vergleich zu herkömmlichen Teststreifen verbessertes Signal-zu-Hintergrund-Verhältnis erzielt werden, da die Zugabe der Flüssigkeit quasi als Waschschritt nach der Bound-Free-Trennung eingesetzt werden kann.

Die Erfindung weist die folgenden Vorteile auf:

[0048] Die Kombination des Flüssigkeitstransports mittels Zentrifugalkräften und mittels Saugkräften in kapillaraktiven Zonen, insbesondere in porösen, saugfähigen Matrixmaterialien, erlaubt eine präzise Steuerung von Flüssigkeitsströmen. Erfindungsgemäß transportiert die kapillaraktive Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, die Flüssigkeit von einem achsenfernen Ende hin zu einem achsennahen Ende, d. h. von der Peripherie des scheibenförmigen Testelements hin in Richtung der Drehachse. Die Zentrifugalkraft, die ebenfalls zum Bewegen der Flüssigkeiten benutzt werden kann, wirkt dieser Transportrichtung genau entgegen. Durch gezielte Steuerung der Rotation des Testelements (wie z. B. schnelleres/langsameres Rotieren, An- und Abschalten der Rotationsbewegung) ist es deshalb möglich, den Fluss der Probenflüssigkeit in der kapillaraktiven Zone, welche eine poröse, saugfähige Matrix ist, zu verlangsamen oder zu stoppen, so dass gezielte und definierte Reaktionsbedingungen eingehalten werden können. Gleichzeitig erlaubt die Verwendung der porösen, saugfähigen Matrix, die im Wesentlichen als Abfangmatrix für die Bound-Free-Separation in Immunoassays dient, ein effizientes Abfangen von Probenbestandteilen im Verlauf des Immunoassays. Insbesondere ist es durch das Wechselspiel von Zentrifugal- und Kapillarkräften (Saugkräften) möglich, ohne gesteigerten technischen Aufwand ein Hin- und Herbewegen der Probe über eine Reagenzienzone, insbesondere eine Zone mit immobilisierten Reagenzien (v. a. Abfangzone für heterogene Immunoassays), zu ermöglichen und so ein effektiveres Auflösen der Reagenzien, Mischen der Probe mit Reagenzien bzw. ein Abfangen von Probenbestandteilen an immobilisierten Bindepartnern zu gewährleisten. Gleichzeitig ist es möglich, Verarmungseffekte bei der Bindung von Probenbestandteilen (v. a. Analyt) an immobilisierte Bindepartner auszuschalten und so die Bindeeffizienz zu steigern (d. h. an Analyt verarmte Probenteile können beim Hin- und Herbewegen der Probe über die Abfangzone und/oder durch effizientes Durchmischen durch analytreiche Probenteile ersetzt werden). Darüber hinaus kann durch das Hin- und Herbewegen von Flüssigkeiten in der kapillaraktiven Zone ein möglichst effizientes Ausnutzen der kleinen Flüssigkeitsvolumina nicht nur für Reaktionszwecke (hier wird insbesondere das Probenvolumen ausgenutzt) sondern auch für Waschzwecke, beispielsweise zur besseren Diskriminierung von gebundenem und freiem Label in der Abfangzone, bewirkt werden. Dadurch lassen sich effektiv die Proben- und Flüssigreagenzienmenge sowie Waschpuffermengen minimieren.

[0049] Durch die zentrale Lage der Drehachse innerhalb des Testelements ist es möglich, sowohl das Testelement selbst als auch das dazugehörige Messgerät möglichst kompakt zu gestalten. Bei chipförmigen Testelementen, wie sie beispielsweise in Figur 1 und 2 von US 2004/0265171 gezeigt sind, liegt die Drehachse außerhalb des Testelements. Ein dazugehöriger Drehteller oder Rotor ist somit zwangsläufig größer als bei einem Testelement mit identischen Ausmaßen, bei dem aber die Drehachse zentral innerhalb des Testelements angeordnet ist, wie dies bei den erfindungsgemäßen Testelementen der Fall ist.

[0050] Die Erfindung wird durch die nachfolgenden Beispiele und Figuren näher erläutert. Hierbei wird jeweils auf immunologische Sandwich-Assays Bezug genommen. Die Erfindung ist jedoch nicht hierauf beschränkt. Sie kann auf andere Arten der Immunoassays, insbesondere auch auf kompetitive Immunoassays, oder andere Arten von spezifischen Bindeassays (beispielsweise solche, die als Bindepartner Zucker und Lectine, Hormone und deren Rezeptoren, oder auch komplementäre Nukleinsäurepaare verwenden) ebenfalls angewandt werden. Typische Vertreter dieser spezifischen Bindeassays sind dem Fachmann an sich bekannt (im Zusammenhang mit Immunoassays wird hier ausdrücklich auf die Figuren 1 und 2 und die dazugehörigen Beschreibungspassagen des Dokuments US 4,861,711 Bezug genommen) und können auf die vorliegende Erfindung ohne weiteres übertragen werden.

Figur 1 zeigt in schematischer Darstellung eine Aufsicht auf eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Testelements. Der Klarheit halber ist dabei lediglich die Schicht des Testelements dargestellt, die die fluidischen Strukturen enthält. Die gezeigte Ausführungsform enthält dabei nur eine Öffnung zum Einbringen von Proben- und/oder Waschflüssigkeit. Die Abtrennung störender Probenbestandteile erfolgt in dieser Ausführungsform, nach dem die Probe mit Reagenzien kontaktiert wurde.

Figur 2 zeigt schematisch eine weitere bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Testelements. Auch hier wurde lediglich die Struktur abgebildet, die die fluidischen Elemente des Testelements aufweist. In dieser Ausführungsform des Testelements gibt es zwei separate Proben- und Waschpufferaufgabeöffnungen. Eine Abtrennung der zellulären Probenbestandteile erfolgt hier bereits, bevor die Probe mit Reagenzien in Kontakt gebracht wird.

Figur 3 zeigt eine Variante der Ausführungsform gemäß Figur 1 in schematischer Darstellung. Auch hier erfolgt die Abtrennung zellulärer Probenbestandteile, nach dem die Probe mit Reagenzien in Kontakt gebracht wurde. Allerdings weist die Struktur gemäß Figur 3 eine separate Zuführung für Waschflüssigkeit auf.

Figur 4 zeigt eine weitere bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Testelements in schematischer Ansicht analog Figur 2.

Figur 5 stellt eine geringfügige Weiterentwicklung des Testelements gemäß Figur 3 dar. Im Unterschied zur Ausführungsform gemäß Figur 3 enthält Figur 5 eine andere geometrische Anordnung des Waste-Vlieses und eine andere Art von Ventil am Ende des Probendosierabschnittes.

Figur 6 zeigt schematisch eine Aufsicht auf eine Weiterentwicklung des Testelements gemäß Figur 5. Im Unterschied zu der Ausführungsform gemäß Figur 5 enthält die Ausführungsform gemäß Figur 6 eine fluidische Struktur zur Aufnahme eines Probenüberschusses.

Figur 7 ist eine schematische Darstellung einer weiteren Variante des Testelements gemäß Figur 3. Funktional sind die fluidischen Strukturen im Wesentlichen analog denen von Figur 3. Allerdings sind sie geometrisch anders ausgerichtet und gestaltet.

Figur 8 zeigt schematisch eine weitere bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Testelements. Die Strukturen in Figur 8 entsprechen dabei im Wesentlichen den Funktionen, die durch das Testelement gemäß Figur 4 bereits bekannt sind.

Figur 9 zeigt schematisch eine Aufsicht auf eine nicht erfindungsgemäße Alternative zum Testelement gemäß Figur 6. Im Unterschied zu der erfindungsgemäßen Ausführungsform gemäß Figur 6 enthält die Ausführungsform gemäß Figur 9 eine achsenferne Probenaufgabeöffnung, die die Probe über eine Kapillare zunächst näher ans Zentrum des Testelements heranführt, das heißt in einen achsennahen Bereich.

Figur 10 zeigt den typischen Kurvenverlauf für Troponin T-Messungen in Vollblutproben (Konzentration an Troponin T in ng/ml aufgetragen gegen die Signalstärke (counts)). Die Proben wurden mit rekombinantem Troponin T auf die jeweilige Konzentration aufgestockt. Die Daten gehören zu Beispiel 2 und wurden mit Hilfe von Testelementen gemäß Figur 6/ Beispiel 1 erhalten.

[0051] Die Ziffern und Abkürzungen in den Figuren haben die folgende Bedeutung:

1 scheibenförmiges Testelement (Disk)
2 Substrat (z. B. ein- oder mehrteilig, Spritzguss, gefräst, aus Schichten aufgebaut etc.)

3 zentrale Aussparung (Antriebsloch)
4 Probenaufgabeöffnung
5 Probendosierzone (Dosierabschnitt des Kanals)
6 Kapillarstopp (z. B. hydrophobe Barriere, geometrisches/nicht-schließendes Ventil)
7 Behälter für Probenüberschuss
8 Kapillarstopp (z. B. hydrophobe Barriere, geometrisches/nicht-schließendes Ventil)
9 Kanal
10 Serum-/Plasmasammelzone (Serum-/Plasmakammer)
11 Erythrozytensammelzone (Erythrozytenkammer)
12 poröse, saugfähige Matrix (Membran)
13 Waste (Vlies)
14 Kapillarstopp (z. B. hydrophobe Barriere, geometrisches/nicht-schließendes Ventil)
15 Kanal
16 Zugabeöffnung für weitere Flüssigkeiten, z. B. Waschpuffer
17 Entlüftungsöffnung
18 Dekantierkanal
19 Kapillarstopp (z. B. hydrophobe Barriere, geometrisches/nicht-schließendes Ventil)
20 Auffangreservoir
21 Kapillarkanal

[0052] Die Figuren 1 bis 8 zeigen unterschiedliche bevorzugte Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Testelements (1). Im Wesentlichen ist jeweils das Substrat (2), enthaltend die fluidischen Strukturen und die zentrale Aussparung (Antriebsloch 3), abgebildet. Neben dem Substrat, das zum Beispiel ein oder mehrteilig sein kann, und mittels Spritzguss, Fräsen oder durch Laminieren von entsprechenden Schichten aufgebaut sein kann, enthält das erfindungsgemäße, scheibenförmige Testelement (1) auch in der Regel eine Deckschicht, die in den Figuren der Übersichtlichkeit halber nicht dargestellt ist. Grundsätzlich kann die Deckschicht ebenfalls Strukturen tragen, in der Regel aber wird sie außer den Öffnungen für die Proben und/oder weiteren auf das Testelement aufzugebenden Flüssigkeiten keinerlei Strukturen aufweisen. Die Deckschicht kann auch vollkommen ohne Öffnungen gestaltet sein, beispielsweise in Form einer Folie, die mit dem Substrat verbunden ist und die darin befindlichen Strukturen abschließt.

[0053] Die Ausführungsformen, die in den Figuren 1 bis 9 dargestellt sind, zeigen fluidische Strukturen, die weitgehend gleiche Funktionen erfüllen, auch wenn sie im Detail von Ausführungsform zu Ausführungsform sich unterscheiden. Der grundsätzliche Aufbau und die grundsätzliche Funktion soll deshalb hier näher anhand der Ausführungsform gemäß Figur 1 erläutert werden. Die Ausführungsformen gemäß Figur 2 bis 9 werden anschließend lediglich anhand der spezifischen Unterschiede zueinander näher erläutert, um unnötige Wiederholungen zu vermeiden.

[0054] Figur 1 zeigt eine erste bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen, scheibenförmigen Testelements (1). Das Testelement (1) enthält ein Substrat (2), welches die fluidischen und mikrofluidischen sowie chromatographischen Strukturen enthält. Das Substrat (2) ist durch ein entsprechendes Gegenstück (Deckschicht) abgedeckt (nicht gezeigt), welches Probenaufgabe und Lüftungsöffnungen enthält, die zu den Strukturen im Substrat (2) korrespondieren. Sowohl die Deckschicht als auch das Substrat (2) weisen eine zentrale Aussparung (3) auf, die im Zusammenwirken mit einer entsprechenden Antriebseinheit in einem Messgerät ein Rotieren des scheibenförmigen Testelements (1) ermöglichen. Alternativ ist es möglich, dass das Testelement (gemäß einer der Figuren 1 bis 9) keine solche zentrale Aussparung (3) aufweist und der Antrieb über eine entsprechend den äußeren Konturen des Testelements gestaltete Antriebseinheit des Messgeräts rotiert wird, beispielsweise einen rotierenden Teller, in den das Testelement in eine seiner Form entsprechenden Vertiefung eingelegt wird.

[0055] Probenflüssigkeit, insbesondere Vollblut, wird dem Testelement (1) über die Probenaufgabeöffnung (4) zugeführt. Angetrieben durch Kapillarkräfte und/oder Zentrifugalkräfte füllt die Probenflüssigkeit die Probendosierzone (5). Die Probendosierzone (5) kann dabei auch die getrockneten Reagenzien beinhalten. Sie wird durch die Kapillarstopps (6 und 8), die beispielsweise als hydrophobe Barriere oder als geometrisches/nicht schließendes Ventil ausgebildet sein können, begrenzt. Die Begrenzung der Probendosierzone (5) durch die Kapillarstopps (6, 8) gewährleistet dabei, dass ein definiertes Probenvolumen aufgenommen und in die fluidischen Zonen, die stromabwärts der Probendosierzone (5) liegen, weitergegeben wird. Bei Rotation des Testelements (1) wird ein eventueller Probenüberschuss von der Probenaufgabeöffnung (4) und der Probendosierzone (5) in den Behälter für Probenüberschuss (7) überführt, während die abgemessene Menge an Probe aus der Probendosierzone (5) in den Kanal (9) überführt wird.

[0056] Bei entsprechenden Rotationsgeschwindigkeiten wird in Kanal (9) die Abtrennung roter Blutkörperchen und anderer zellulärer Probenbestandteile gestartet. Die in der Probendosierzone (5) enthaltenen Reagenzien sind beim Eintritt der Probe in den Kanal (9) bereits gelöst in der Probe vorhanden. Der Eintritt der Probe in Kanal (9) über den Kapillarstopp (8) führt dabei zu einer Durchmischung der Reagenzien in der Probe.

[0057] Die Möglichkeit der zeitlichen Steuerung der Rotationsvorgänge, die mit dem erfindungsgemäßen Testelement

möglich sind, erlaubt dabei eine gezielte Steuerung der Verweilzeiten und damit der Inkubationszeit der Probe mit Reagenzien und der Reaktionszeiten.

[0058] Während der Rotation wird die Reagenz-Proben-Mischung in die fluidischen Strukturen (10) (Serum-/Plasmasammelzone) und (11) (Erythrozytensammelzone) geleitet. Aufgrund der Zentrifugalkräfte, die auf die Reagenz-Proben-Mischung wirken, wird Plasma bzw. Serum von roten Blutkörperchen getrennt. Die roten Blutkörperchen sammeln sich dabei in der Erythrozytensammelzone (11), während das Plasma im Wesentlichen in der Sammelzone (10) verbleibt.

[0059] Im Gegensatz zu Testelementen, die Membranen oder Vliese zum Abtrennen partikulärer Probenbestandteile nutzen (beispielsweise Glasfaservliese oder asymmetrisch poröse Kunststoffmembranen zum Abtrennen roter Blutkörperchen aus Vollblut, allgemein als Blut abtrennende Membranen oder Vliese bezeichnet) kann das Probenvolumen mit den erfindungsgemäßen Testelementen wesentlich effektiver ausgenutzt werden, da praktisch keine Totvolumina (z. B. Volumen der Faserzwischenräume oder Poren) vorhanden sind, aus denen die Probe nicht wieder entnommen werden kann. Außerdem neigen diese Blut abtrennenden Membranen und Vliese des Standes der Technik teilweise zur unerwünschten Adsorption von Probenbestandteilen (z. B. Proteinen) oder zur Zerstörung (Lyse) von Zellen, was mit den erfindungsgemäßen Testelementen ebenfalls nicht beobachtet wird.

[0060] Wird die Rotation des Testelements (1) angehalten oder verlangsamt, wird das Reagenz-Plasma-Gemisch (in dem sich bei Anwesenheit des Analyten im Falle eines Immunoassays, beispielsweise Sandwichkomplexe aus Analyt- und Antikörperkonjugaten gebildet haben) durch die Saugwirkung der porös-saugfähigen Matrix (12) in diese aufgenommen und durch diese hindurchgeleitet. Im Fall von Immunoassays werden durch die immobilisierten Bindepartner, die in der Membran (12) enthalten sind, die analythaltigen Komplexe in der Nachweiszone abgefangen und in der Kontrollzone ungebundenes, gelabeltes Konjugat gebunden. Das an die poröse, saugfähige Matrix angrenzende Vlies (13) unterstützt dabei die Bewegung der Probe durch die Membran (12). Das Vlies (13) dient darüber hinaus der Aufnahme der Probe nach dem Durchströmen der Membran (12).

[0061] Nachdem die flüssige Probe die fluidische Struktur des Testelements (1) von der Probenaufgabeöffnung (4) bis zum Vlies (13) durchströmt hat, wird in einem nachfolgenden Schritt Waschpuffer in die Probenaufgabeöffnung (4) pipettiert. Durch dieselbe Kombination von Kapillar-, Zentrifugal- und chromatographischen Kräften durchströmt der Waschpuffer die entsprechenden fluidischen Strukturen des Testelements (1) und wäscht insbesondere die Membran (12), wo sich nunmehr die gebundenen Analytkomplexe befinden und entfernt so überschüssige Reagenzreste. Der Waschschritt kann ein oder mehrmals wiederholt werden, um so das Signal-zu-Hintergrund-Verhältnis zu verbessern. Das erlaubt eine Optimierung der Nachweisgrenze für den Analyten und eine Erhöhung des dynamischen Messbereichs.

[0062] Der Probenkanal, in dem die flüssige Probe im Testelement (1) von der Probenaufgabeöffnung (4) zum achsenfernen ersten Ende der Membran (12) transportiert wird, umfasst im vorliegenden Fall die Probendosierzone (5), den Kapillarstopp (8), den Kanal (9), die Serum-/Plasmasammelzone (10) und die Erythrozytenkammer (11). In anderen Ausführungsformen kann der Probenkanal aus mehr oder weniger Einzelzonen/-breichen/- kammern bestehen.

[0063] Die Figuren 3, 5, 6, 7 und 9 zeigen im Wesentlichen analoge Ausführungsformen zu Figur 1. Figur 3 unterscheidet sich von Figur 1 dadurch, dass sich einerseits an die Probenaufgabeöffnung (4) kein Behälter für Probenüberschuss (7) anschließt und am Ende des Probendosierabschnitts (5) kein Kapillarstopp vorhanden ist (d. h. hier ist ein dosierter Probenauftrag erforderlich) und andererseits dadurch, dass eine separate Zugabeöffnung (16) für weitere Flüssigkeiten, wie z. B. Waschpuffer, und ein dazugehöriger Kanal (15) vorhanden sind, der den Puffer zur Membran (12) transportieren kann. Der Transport des Puffers zur Membran (12) kann dabei auf Kapillarkräften oder Zentrifugalkräften beruhen.

[0064] Die Ausführungsform gemäß Figur 5 ist weitgehend identisch mit der Ausführungsform gemäß Figur 3. Die beiden Ausführungsformen unterscheiden sich lediglich durch die Form des Waste-Vlieses (13) und dadurch, dass das Testelement gemäß Figur 5 einen Kapillarstopp (8) am Ende des Probendosierabschnitts (5) aufweist.

[0065] Die Ausführungsform gemäß Figur 6 ist wiederum im Wesentlichen identisch mit der Ausführungsform gemäß Figur 5 und unterscheidet sich von dieser durch das zusätzliche Vorhandensein eines Behälters für Probenüberschuss (7) im Bereich zwischen der Probendosieröffnung (4) und der Probendosierzone (5). Hier ist kein dosiertes Aufbringen der Probe erforderlich (analog Figur 1).

[0066] Die Ausführungsform des erfindungsgemäßen Testelements (1) gemäß Figur 7 entspricht im Wesentlichen dem Testelement (1) der Figur 6. Beide Ausführungsformen weisen die gleichen fluidischen Strukturen und Funktionen auf. Lediglich die Anordnung und geometrische Ausgestaltung ist unterschiedlich. Die Ausführungsform gemäß Figur 7 weist zusätzliche Entlüftungsöffnungen (17) auf, die aufgrund der andersartigen Dimensionierung der fluidischen Strukturen im Vergleich zu Figur 6 notwendig sind, um ein Befüllen der Strukturen mit Proben oder Waschflüssigkeit zu ermöglichen. Kanal (9) ist hier als dünne Kapillare ausgestaltet, die erst beim Rotieren des Testelements befüllt wird (d. h. ein Überwinden des Kapillarstopps (8) ist nur mittels Zentrifugalkraft möglich). Bereits während der Rotation ist es mit dem Testelement (1) gemäß Figur 7 möglich, gewonnenes Plasma aus der Erythrozytensammelzone 11 abzuführen; dazu dient die Dekantiereinheit 18, die schließlich in die Serum-/Plasmasammelzone 10 mündet.

[0067] Die Ausführungsform des nicht erfindungsgemäßen Testelements (1) gemäß Figur 9 entspricht im Wesentlichen dem Testelement (1) der Figur 6. Beide Ausführungsformen weisen die gleichen fluidischen Strukturen und Funktionen auf. Lediglich die Anordnung und geometrische Ausgestaltung ist unterschiedlich. Die nicht erfindungsgemäße Ausfüh-

rungsform gemäß Figur 9 weist grundsätzlich eine weiter außen, das heißt achsferne, Probenaufgabeöffnung (4) auf. Dies kann vorteilhaft sein, wenn das Testelement (1) zum Befüllen mit Probe bereits in einem Messgerät eingebracht ist. Dem Benutzer kann in diesem Fall die Probenaufgabeöffnung (4) leichter zugänglich gemacht werden als dies bei den erfindungsgemäßen Testelementen gemäß Figur 1 bis 8 möglich ist, wo die Probenaufgabeöffnung (4) jeweils achsnah (d. h. entfernt vom äußeren Rand des Testelements) angeordnet ist.

[0068] Im Gegensatz zur Ausführungsform gemäß Figur 1, 3, 5, 6, 7 und 9 findet in den Ausführungsformen gemäß Figur 2, 4 und 8 die Abtrennung der zellulären Probenbestandteile aus der Probenflüssigkeit statt, bevor die Probe mit Reagenzien in Kontakt kommt. Das hat den Vorteil, dass die Verwendung von Vollblut oder Plasma bzw. Serum als Probenmaterial nicht zu unterschiedlichen Messergebnissen führt, da stets zunächst Plasma bzw. Serum mit den Reagenzien in Kontakt kommt und das Auflöse-/Inkubations-/Reaktionsverhalten damit praktisch gleich sein sollte. Auch in den Ausführungsformen gemäß Figur 2, 4 und 8 wird die flüssige Probe zunächst über die Probenaufgabeöffnung (4) auf das Testelement (1) aufgegeben. Durch Kapillarkräfte und/oder Zentrifugalkräfte wird die Probe anschließend von der Probenaufgabeöffnung (4) in die Kanalstrukturen weitertransportiert. In den Ausführungsformen gemäß Figur 2 und 4 wird die Probe nach dem Aufgeben in die Probenaufgabeöffnung (4) in einem Probendosierabschnitt (5) überführt und anschließend durch Rotation eine Serum-/Plasmaabtrennung vom Vollblut bewirkt. Die unerwünschten zellulären Probenbestandteile, im Wesentlichen Erythrozyten, sammeln sich dabei in der Erythrozytenfalle (11), während Serum bzw. Plasma sich in der Zone (10) ansammeln. Über eine Kapillare wird das Serum aus der Zone (10) entnommen und in die Kanalstruktur (9) weitertransportiert, wo getrocknete Reagenzien untergebracht sind und beim Einströmen der Probe gelöst werden. Durch nochmaliges Rotieren des Testelements (1) kann die Proben-Reagenz-Mischung aus Kanalstruktur (9) den Kapillarstopp (14) überwinden und so über den Kanal (15) zur Membran (12) gelangen. Beim Verlangsamen oder Anhalten der Rotation wird die Proben-Reagenz-Mischung über die Membran (12) in das Waste-Vlies (13) transportiert.

[0069] Die Ausführungsformen gemäß Figur 2 und Figur 4 unterscheiden sich dabei darin, dass in Figur 2 ein Behälter für Probenüberschuss (7) vorgesehen ist, während die Ausführungsform gemäß Figur 4 eine solche Funktion nicht vorsieht. Wie in der Ausführungsform gemäß Figur 3 ist hier ein dosiertes Aufbringen der Probe zweckmäßig.

[0070] Figur 8 zeigt eine Variante der Ausführungsformen gemäß Figuren 2 und 4. Hier wird die Probe unmittelbar nach der Probenaufgabeöffnung (4) nach Passieren eines ersten geometrischen Ventils (19) durch Zentrifugieren in eine Erythrozytenabtrennstruktur (10, 11) überführt. Der mit (10) bezeichnete Bereich dient dabei als Serum-/Plasmasammelzone (10), aus der von Zellen befreites Serum bzw. Plasma nach dem Zentrifugieren über einen Kapillarkanal (21) weitergeleitet wird. Kammer (20) dient als Auffangreservoir für überschüssiges Serum bzw. Plasma, das nach vollständigem Befüllen des Probendosierabschnitts (5) unter Umständen aus der Serum-/Plasmasammelzone (10) nachfließt. Alle anderen Funktionen und Strukturen sind analog den Figuren 1 bis 7.

[0071] Durch gezieltes Gestalten der hydrophilen bzw. hydrophoben Eigenschaften der Oberflächen des Testelements (1) kann erreicht werden, dass ein Bewegen der Probenflüssigkeit und/oder Waschflüssigkeiten entweder nur mit Hilfe der Rotation und der daraus resultierenden Zentrifugalkräfte erfolgt oder durch eine Kombination von Zentrifugalkräften und Kapillarkräften. Letzteres erfordert zumindest teilweise hydrophilisierte Oberflächen in den fluidischen Strukturen des Testelements (1).

[0072] Wie weiter oben im Zusammenhang mit Figur 1 bereits beschrieben, weisen die erfindungsgemäßen Testelemente gemäß den Figuren 1, 2, 6, 7, 8 und 9 eine automatische Funktionalität auf, die ein verhältnismäßig genaues Abmessen eines Probenaliquots aus einer im Überschuss auf das Testelement aufgegebenen Probe erlaubt (so genanntes "Metering-System"). Es umfasst im Wesentlichen die Elementen 4, 5, 6, und 7 der dargestellten Testelemente (1). Probenflüssigkeit, insbesondere Vollblut, wird dem Testelement (1) über die Probenaufgabeöffnung (4) zugeführt. Angetrieben durch Kapillarkräfte und/oder Zentrifugalkräfte füllt die Probenflüssigkeit die Probendosierzone (5). Die Probendosierzone (5) kann dabei auch die getrockneten Reagenzien beinhalten. Sie wird durch die Kapillarstopps (6 und 8), die beispielsweise als hydrophobe Barriere oder als geometrische/nicht schließende Ventile ausgebildet sein können, begrenzt. Die Begrenzung der Probendosierzone (5) durch die Kapillarstopps (6, 8) gewährleistet dabei, dass ein definiertes Probenvolumen aufgenommen und in die fluidischen Zonen, die stromabwärts der Probendosierzone (5) liegen, weitergegeben wird. Bei Rotation des Testelements (1) wird ein eventueller Probenüberschuss von der Probenaufgabeöffnung (4) und der Probendosierzone (5) in den Behälter für Probenüberschuss (7) überführt, während die abgemessene Menge an Probe aus der Probendosierzone (5) in den Kanal (9) überführt wird. Alternativ ist es auch möglich, anstelle der durch Rotation erzeugten Kraft, die die Probe bewegt, auch andere Kräfte hierzu einzusetzen, z. B. durch Anlegen eines Überdrucks auf der Probeneingangsseite bzw. eines Unterdrucks an der Probenausgangsseite. Das dargestellte Metering-System ist folglich nicht zwingend an rotierbare Testelemente gebunden, sondern kann auch in anderen Testelementen Anwendung finden.

[0073] Ähnliche Metering-Systeme sind beispielsweise aus US 5,061,381 bekannt. Auch in diesem Dokument wird ein System beschrieben, bei dem Probenflüssigkeit im Überschuss auf ein Testelement aufgegeben werden kann. Das Abmessen eines verhältnismäßig genauen Probenaliquots, das anschließend im Testelement weiterverarbeitet wird, erfolgt hierbei ebenfalls durch das Zusammenspiel einer Dosierzone ("metering chamber") und einer Zone für den

Probenüberschuss ("overflow chamber"), wobei diese beiden Zonen - anders als bei der vorliegenden Erfindung - durch einen zwar schmalen, aber zumindest beim Befüllen stets Flüssigkeitsaustausch ermöglichenden Kontakt stehen. Probenflüssigkeit wird hier beim Befüllen des Testelements unmittelbar aufgetrennt in einen Teil, der durch einen breiten Kanal in die "metering chamber" geleitet wird, und einen Teil, der durch einen schmalen Kanal in die "overflow chamber" fließt. Nach dem vollständigen Befüllen der "metering chamber" wird das Testelement in Rotation versetzt und ein eventueller Probenüberschuss in die "overflow chamber" abgeleitet, so dass in der "metering chamber" nur das gewünschte, abgemessene Probenvolumen verbleibt, welches anschließend weiter verarbeitet wird.

[0074] Nachteilig an der Ausgestaltung des Metering-Systems gemäß US 5,061,381 ist, dass bei Probenvolumina, die auf das Testelement aufgegeben werden und die genau dem Mindestvolumen entsprechen oder nur geringfügig größer sind als das Mindestvolumen, die Gefahr besteht, dass die Dosierzone unterdosiert wird, da ja stets ein Anteil der Probe von Anfang an ungehindert in die "overflow chamber" fließt.

[0075] Dieses Problem wird bei der vorliegend vorgeschlagenen Ausgestaltung des Metering-Systems dadurch gelöst, dass zwischen Dosierzone und der Zone für den Probenüberschuss ein Kapillarstopp (hydrophobe Barriere bzw. ein geometrisches bzw. nicht-schließendes Ventil) angeordnet wird. Beim Befüllen des Testelements mit Probe wird deshalb zunächst die Probe praktisch ausschließlich in die Dosierzone geleitet. Der Kapillarstopp verhindert dabei, dass Probe in die Zone für den Probenüberschuss einfließen kann, bevor die Probendosierzone vollständig gefüllt ist. Auch bei Probenvolumina, die auf das Testelement aufgegeben werden und die genau dem Mindestvolumen entsprechen oder nur geringfügig größer sind als das Mindestvolumen, ist so sichergestellt, dass die Probendosierzone vollständig gefüllt ist.

Beispiel 1

Herstellung eines Testelements gemäß Figur 6

1.1. Herstellung des Substrats (2)

[0076] Mittels Spritzguss wird aus Polycarbonat (PC) (alternativ ist auch Polystyrol (PS), ABS-Kunststoff oder Polymethylmethacrylat (PMMA) als Material möglich) ein Substrat (2) gemäß Figur 6 gefertigt (Abmessungen ca. 60 x 80 mm^2). Die einzelnen Kanäle und Zonen (fluidische Strukturen) haben dabei die folgenden Dimensionen (Tiefe der Strukturen (t) und ggf. deren Volumen (V); die Ziffern verweisen auf Figur 6 und die darin gezeigten Strukturen):

Kapillare zwischen 4 und 5:	t= 500 μm
Nr.7:	t= 700 μm
Nr.5:	t= 150 μm; V= 26,5 mm^3
Nr.8:	t= 500 μm
Nr.9:	t= 110 μm
Nr.10:	t= 550 μm
Nr.11:	t= 130 μm; V= 15 mm^3
Nr.15:	t= 150 μm; V= 11,4 mm^3

[0077] Ein Übergang von weniger tiefen auf tiefere Strukturen ist dabei in der Regel für Flüssigkeiten in den Fluidikstrukturen nur möglich, wenn von außen Kraft (z. B. Zentrifugalkraft) einwirkt. Solche Übergänge wirken als geometrische (nicht-schließende) Ventile.

[0078] Das Substrat (2) weist neben den fluidischen Strukturen (s. o.) noch die Proben- und Pufferzugabeöffnungen (4, 16), Entlüftungsöffnungen (17) und die zentrale Aussparung (3) auf.

[0079] Die Oberfläche des Substrats (2), die die fluidischen Strukturen aufweist, kann anschließend mittels Plasmabehandlung gereinigt und hydrophiliert werden.

1.2. Einbringen der Reagenzien

[0080] Ein Teil der für den Analytnachweis erforderlichen Reagenzien (z. B. biotinylierte Anti-Analyt-Antikörper und mit einem Fluoreszenzlabel markierte Anti-Analyt-Antikörper) werden mittels Piezodosierung als Lösung abwechselnd als punktförmige Reagenzienspots in den Probendosierabschnitt (5) eingebracht und anschließend getrocknet, so dass praktisch seine gesamte innere Fläche mit Reagenzien belegt ist.

[0081] Die Reagenzlösungen sind dabei wie folgt zusammengesetzt:

Biotinylierter Antikörper:	50 mM Mes pH 5.6,; 100 µg/ml biotinylierte monoklonale Anti-Troponin T-Antikörper
Gelabelte Antikörper	50 mM Hepes pH 7.4, mit Quadratsäurederivat Fluoreszenzfarbstoff JG9(in Polystyrol-Latexpartikel eingebettet) fluoreszenzmarkierte monoklonale Anti-Troponin T-Antikörper (0,35-prozentige Lösung)

1.3. Einlegen der Membran (12)

[0082] In eine entsprechende Aussparung im Substrat (2) wird die poröse Matrix (12) (Nitrocellulosemembran auf Kunststoffträgerfolie; 21 x 5 mm^2; mit 100 µm PE-Folie verstärkte Cellulosenitrat-Membran (Typ CN 140 von Sartorius, Deutschland)), in die mittels Strichimprägnierung (s. u.) eine Analytnachweislinie (Polystreptavidin) und eine Kontrolllinie (Polyhapten) eingebracht wurde, eingelegt und ggf. mittels doppelseitigem Klebeband fixiert.

[0083] Auf die zuvor beschriebene Cellulosenitrat-Membran wird durch Strichdosierung eine wässrige Streptavidinlösung (4,75 mg/ml) aufgebracht. Hierzu wird die Dosierung so gewählt (Dosiermenge 0,12 ml/min, Bahngeschwindigkeit 3 m/min), dass ein Strich mit einer Breite von ca. 0,4 mm entsteht. Dieser Strich dient zum Nachweis des zu bestimmenden Analyts und enthält ca. 0,95 µg Streptavidin pro Membran.

[0084] In einem Abstand von etwa 4 mm flussabwärts vom Streptavidinstrich wird unter identischen Dosierungsbedingungen eine wässrige Troponin T-Polyhapten-Lösung mit 0,3 mg/ml aufgebracht. Dieser Strich dient als Funktionskontrolle des Testelements und enthält ca. 0,06 µg Polyhapten pro Test.

1.4. Aufbringen der Abdeckung

[0085] Anschließend wird die Abdeckung (Folie oder Spritzgussteil ohne Fluidikstrukturen, die bzw. das ggf. hydrophiliert sein kann) aufgebracht und gegebenenfalls mit dem Substrat (2) permanent verbunden, vorzugsweise verklebt, verschweißt oder verklipst.

1.5. Einlegen des Waste-Vlieses (13)

[0086] Schließlich wird das Substrat gewendet und in die entsprechende Aussparung das Waste-Vlies (13) (13 x 7 x 1,5 mm^3 großes Vlies aus 100 Teilen Glasfaser (Durchmesser 0,49 bis 0,58 µm, Länge 1000 µm) und 5 Teilen Polyvinylalkoholfasern (Kuralon VPB 105-2 von Kuraray) mit einem Flächengewicht von ca. 180 g/m^2) eingelegt, welches dann mittels eines Klebebandes im Substrat (2) fixiert wird.

[0087] Durch die quasi selbstdosierende Probenaufnahmeeinheit (umfassend die Probenaufgabeöffnung (4), den Probendosierabschnitt (5) und den ihn begrenzenden Strukturen (Kapillarstopp (8) und Behälter für Probenüberschuss (7)) wird gewährleistet, dass unabhängig von der auf das Testelement (1) aufgegebenen Probenmenge (sofern sie ein Mindestvolumen (in diesem Beispiel 27 µl) überschreitet) bei Verwendung unterschiedlicher Testelemente reproduzierbar gleiche Probenmengen verwendet werden.

[0088] Durch die Verteilung der Reagenzien im gesamten Probendosierabschnitt (5), vorzugsweise in Form sich abwechselnder Reagenzienspots (d. h. kleiner, fast punktförmiger Reagenzienbezirke), in Kombination mit einer raschen Befüllung des Probendosierabschnitts (5) mit Probe wird ein homogenes Lösen der Reagenzien im gesamten Probenvolumen erreicht, insbesondere falls das Befüllen deutlich schneller erfolgt als das Lösen. Darüber hinaus erfolgt ein praktisch vollständiges Lösen der Reagenzien, so dass auch hier wieder eine gesteigerte Reproduzierbarkeit im Vergleich zu herkömmlichen, auf saugfähigen Materialien basierenden Testelementen (Teststreifen, Bio-Disks mit Reagenzienpads etc.) beobachtet wird.

Beispiel 2

Nachweis von Troponin T mit Hilfe des Testelements aus Beispiel 1

[0089] Auf das Testelement gemäß Beispiel 1 werden 27 µl Vollblut, dem unterschiedliche Mengen an rekombinantem Troponin T beigemischt wurden, aufgegeben. Das Testelement wird anschließend anhand des in Tabelle 1 angegebenen Ablaufs weiterbehandelt und abschließend die Fluoreszenzsignale für unterschiedliche Konzentrationen gemessen.

Tabelle 1: Messablauf

Zeit (min: sec)	Dauer (min:sec)	Rotation mit Umdrehungen pro Minute	Aktion
00:00	01:00	0	27 µl Probe aufgeben; Lösen der Reagenzien
01:00	02:00	5000	Erythrozytenseparation und Inkubation
03:00	01:00	800	Chromatographie (Signal generieren)
04:00	00:10	0	12 µl Waschpuffer[1)] aufgeben
04:10	02:00	800	Waschpuffertransport und Chromatographie
06:10	00:10	0	12 µl Waschpuffer[1)] aufgeben
06:20	02:00	800	Waschpuffertransport und Chromatographie
08:20	00:10	0	12 µl Waschpuffer[1)] aufgeben
08:30	02:00	800	Waschpuffertransport und Chromatographie
10:30		0	Messen
[1)] 100 mM Hepes, pH 8,0; 150 mM NaCl; 0,095 % Natriumazid.			

[0090] Die Messdaten sind in Figur 10 wiedergegeben. Dabei sind die jeweiligen Messsignale (in counts) gegen die Konzentration an rekombinantem Troponin T (c (TnT)) in [ng/ml]) aufgetragen. Die tatsächliche Troponin T-Konzentration in den Vollblutproben wurde mit der Referenzmethode "Roche Diagnostics Elecsys Troponin T Test" bestimmt.

[0091] Im Vergleich zu herkömmlichen immunochromatographischen Troponin T-Teststreifen, wie z. B. Cardiac Troponin T von Roche Diagnostics, ist die Nachweisgrenze für den quantitativ auswertbaren Messbereich mit dem erfindungsgemäßen Testelement nach unten verschoben (Cardiac Troponin T: 0,1 ng/ml; Erfindung: 0,02 ng/ml) und der dynamische Messbereich nach oben hin erweitert (Cardiac Troponin T: 2,0 ng/ml; Erfindung: 20 ng/ml). Zugleich zeigen die erfindungsgemäßen Testelemente eine verbesserte Präzision.

Patentansprüche

1. Testelement (1) zum Nachweis eines Analyten in einer flüssigen Probe , das im Wesentlichen scheibenförmig ist, enthaltend

- eine zentrale Achse innerhalb des Testelements, die senkrecht zur Testelementebene liegt und um die das Testelement (1) rotierbar ist,
- eine Probenaufgabeöffnung (4) zur Aufgabe einer flüssigen Probe,
- eine kapillaraktive Zone (12), welche eine poröse, saugfähige Matrix (12) ist, wobei die kapillaraktive Zone (12) eine oder mehrere Zonen mit immobilisierten Reagenzien enthält, wobei die immobilisierten Reagenzien spezifische Bindereagenzien sind, welche dazu geeignet sind, aus der durch die kapillaraktive Zone (12) fließenden Probe gezielt den Analyten oder vom Analyten abgeleitete und mit diesem in Beziehung stehende Spezies abzufangen und welche in Form von Linien, Punkten, Mustern in oder auf dem Material der kapillaraktiven Zone (12) immobilisiert vorliegen, mit einem achsenfernen ersten Ende und einem achsennahen zweiten Ende, und
- einen Probenkanal (9), der von der Probenaufgabeöffnung (4) über einen achsennahen Bereich zum achsenfernen ersten Ende der kapillaraktiven Zone (12) reicht und der eine Zone zum Abtrennen partikulärer Bestandteile aus der flüssigen Probe (10, 11) enthält, **gekennzeichnet dadurch, dass**

das achsenferne erste Ende der kapillaraktiven Zone (12) mit dem Probenkanal (9) in Kontakt steht und die Probenaufgabeöffnung (4) achsennah ist und der Probenkanal (9) von der achsennahen Probenaufgabeöffnung (4) zum achsenfernen ersten Ende der kapillaraktiven Zone (12) reicht.

2. Testelement (1) gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die poröse, saugfähige Matrix (12) ein Papier, eine Membran oder ein Vlies ist.

3. Testelement (1) gemäß einem der vorherigen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die kapillaraktive Zone (12) mit dem achsennahen zweiten Ende in Kontakt steht mit einem weiteren saugfähigen Material (13) oder einer saugfähigen Struktur, das bzw. die Flüssigkeit aus der kapillaraktiven Zone (12) aufnehmen kann.

4. Testelement (1) gemäß einem der vorherigen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenkanal (9) Zonen unterschiedlicher Dimensionen und/oder für unterschiedliche Funktionen enthält, insbesondere eine Zone mit löslichen Reagenzien und/oder eine Probendosierzone (5) und/oder einen Zufluss für weitere Flüssigkeiten (16) außer der Probenflüssigkeit enthält.

5. Testelement (1) gemäß einem der vorherigen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenkanal (9) geometrische Ventile oder Hydrophobsperren (6, 8, 14, 19) enthält.

6. Testelement (1) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Probenaufgabeöffnung (4) mit einer Probendosierzone (5) und einer Zone (7) für Probenüberschuss in Kontakt steht, wobei zwischen der Probendosierzone (5) und der Zone (7) für Probenüberschuss ein Kapillarstopp (6) vorhanden ist.

7. Verfahren zum Nachweis eines Analyten in einer flüssigen Probe, wobei

   - die Probe in die Probenaufgabeöffnung (4) des Testelements (1) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 aufgegeben wird,
   - das Testelement (1) rotiert wird, so dass die Probe zum achsenfernen Ende der kapillaraktiven Zone (12) transportiert wird,
   - die Rotation des Testelements (1) soweit verlangsamt wird bzw. gestoppt wird, so dass die Probe oder ein beim Durchströmen des Testelements (1) aus der Probe gewonnenes Material vom achsenfernen zum achsennahen Ende der kapillaraktiven Zone (12) gesaugt wird, und
   - der Analyt in der kapillaraktiven Zone (12) oder einer ihr nachgelagerten Zone visuell oder optisch nachgewiesen wird.

8. Verfahren gemäß Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, dass**
nach der Rotation des Testelements (1) eine weitere Flüssigkeit auf das Testelement (1) aufgegeben wird, die nach der Probe vom achsenfernen zum achsennahen Ende der kapillaraktiven Zone (12) gesaugt wird.

9. Verfahren gemäß Anspruch 7 oder 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Wanderung der flüssigen Probe und/oder der weiteren Flüssigkeit durch die kapillaraktive Zone (12) durch die Rotation des Testelements (1) gezielt verlangsamt oder gestoppt wird.

10. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 7 bis 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Wanderungsrichtung der flüssigen Probe und/oder der weiteren Flüssigkeit durch die kapillaraktive Zone (12) durch die Rotation des Testelements (1) umgekehrt wird.

11. System zur Bestimmung eines Analyten in einer flüssigen Probe enthaltend ein Testelement (1) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 und ein Messgerät, wobei das Messgerät

   - zumindest einen Antrieb für die Rotation des Testelements (1) und
   - eine Auswerteoptik zum Auswerten des visuellen oder optischen Signals des Testelements (1) aufweist.

Claims

1. A test element (1), which is substantially discoid, for detecting an analyte in a liquid sample, comprising

   - a central axis within the test element, which axis is perpendicular to the test element plane and about which the test element (1) can rotate,
   - a sample feed opening (4) for feeding a liquid sample,
   - a capillary-action zone (12), which is a porous, absorbent matrix (12), the capillary-action zone (12) comprising

one or more zones comprising immobilised reagents, the immobilised reagents being specific binding reagents that are capable of capture, in a targeted manner, the analyte or species derived from or related to the analyte out of the sample flowing through the capillary-action zone (12), and are provided in an immobilised manner in the form of lines, dots or patterns in or on the material of the capillary-action zone (12) having a first end remote from the axis and a second end close to the axis, and

- a sample duct (9), which extends from the sample feed opening (4) over a region close to the axis to the first end, remote from the axis, of the capillary-action zone (12) and comprises a zone for separating particulate components out of the liquid sample (10, 11), **characterised in that**

the first end, remote from the axis, of the capillary-action zone (12) is in contact with the sample duct (9) and the sample feed opening (4) is close to the axis and the sample duct (9) extends from the sample feed opening (4) close to the axis to the first end, remote from the axis, of the capillary-action zone (12).

2. The test element (1) according to claim 1, **characterised in that** the porous, absorbent matrix (12) is a paper, a membrane or a nonwoven fabric.

3. The test element (1) according to any of the preceding claims, **characterised in that**, by means of the second end close to the axis, the capillary-action zone (12) is in contact with an additional absorbent material (13) or an absorbent structure that can absorb the liquid from the capillary-action zone (12).

4. The test element (1) according to any of the preceding claims, **characterised in that** the sample duct (9) comprises zones of different dimensions and/or for different functions, in particular comprises a zone having soluble reagents and/or a sample metering zone (5) and/or an inlet for additional liquids (16) apart from the sample liquid.

5. The test element (1) according to any of the preceding claims, **characterised in that** the sample duct (9) comprises geometric valves or hydrophobic barriers (6, 8, 14, 19).

6. The test element (1) according to any of claims 1 to 5, **characterised in that** the sample feed opening (4) is in contact with a sample metering zone (5) and a zone (7) for sample excess, a capillary stop (6) being provided between the sample metering zone (5) and the zone (7) for sample excess.

7. A method for detecting an analyte in a liquid sample, wherein

- the sample is fed into the sample feed opening (4) of the test element (1) according to any of claims 1 to 6,
- the test element (1) is rotated such that the sample is conveyed to the end, remote from the axis, of the capillary-action zone (12),
- the rotation of the test element (1) is slowed down or stopped to such an extent that the sample or a material obtained from the sample as it flows through the test element (1) is drawn from the end of the capillary-action zone (12) remote from the axis to the end thereof close to the axis, and
- the analyte is detected visually or optically in the capillary-action zone (12) or a zone downstream thereof.

8. The method according to claim 7, **characterised in that**, after the test element (1) has been rotated, an additional liquid is fed onto the test element (1) and is drawn, after the sample, from the end of the capillary-action zone (12) remote from the axis to the end thereof close to the axis.

9. The method according to either claim 7 or claim 8, **characterised in that** the migration of the liquid sample and/or the additional liquid through the capillary-action zone (12) is slowed down or stopped in a targeted manner by the rotation of the test element (1).

10. The method according to any of claims 7 to 9, **characterised in that** the direction of migration of the liquid sample and/or the additional liquid through the capillary-action zone (12) is reversed by the rotation of the test element (1).

11. A system for determining an analyte in a liquid sample, comprising a test element (1) according to any of claims 1 to 6 and a measurement device, wherein the measurement device includes

- at least one drive for the rotation of the test element (1) and
- an evaluation optics for evaluating the visual or optical signals of the test element (1).

Revendications

1. Élément d'essai (1) pour la détection d'un analyte dans un échantillon liquide, qui est sensiblement discoïde, comprenant

   - un axe central à l'intérieur de l'élément d'essai, qui est disposé perpendiculairement au plan de l'élément d'essai et autour duquel l'élément d'essai (1) est rotatif,
   - un orifice de distribution d'échantillons (4), pour l'introduction d'un échantillon liquide,
   - une zone à activité capillaire (12), qui est une matrice poreuse absorbante (12), la zone à activité capillaire (12) contenant une ou plusieurs zones pourvues d'agents réactifs immobilisés, les réactifs immobilisés étant des agents réactifs liants spécifiques, qui sont aptes à capturer de manière ciblée, à partir de l'échantillon s'écoulant à travers la zone à activité capillaire (12) l'analyte ou des espèces dérivées de l'analyte et qui sont en relation avec celui-ci et qui sont présents en étant immobilisés sous forme de lignes, de points, de motifs dans ou sur la matière de la zone à activité capillaire (12), avec une première extrémité éloignée de l'axe et une seconde proche de l'axe, et
   - un canal à échantillons (9), qui mène de l'orifice de distribution d'échantillons (4) via une zone proche de l'axe jusqu'à la première extrémité éloignée de l'axe de la zone à activité capillaire (12) et qui comporte une zone pour la séparation des composants particulaires hors de l'échantillon liquide (10, 11),

   caractérisé en ce que
   la première extrémité éloignée de l'axe de la zone à activité capillaire (12) est en contact avec le canal à échantillons (9) et
   l'orifice de distribution d'échantillons (4) est proche de l'axe et le canal à échantillons (9) mène de l'orifice de distribution d'échantillons (4) jusqu'à la première extrémité éloignée de l'axe de la zone à activité capillaire (12).

2. Élément d'essai (1) selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** la matrice poreuse absorbante (12) est un papier, une membrane ou un non-tissé.

3. Élément d'essai (1) selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** la zone à activité capillaire (12) est en contact par la seconde extrémité proche de l'axe avec une autre matière absorbante (13) ou une structure absorbante, qui est susceptible, le cas échéant de capturer le liquide dans la zone à activité capillaire (12).

4. Élément d'essai (1) selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** le canal à échantillons (9) comporte des zones de dimensions différentes et/ou destinées à des fonctions différentes, en particulier une zone contenant des agents réactifs solubles et/ou une zone de dosage d'échantillons (5) et/ou une arrivée pour d'autres liquides (16), hormis le liquide échantillon.

5. Élément d'essai (1) selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** le canal à échantillons (9) comporte des valves géométriques ou des barrières hydrophobes (6, 8, 14, 19).

6. Élément d'essai (1) selon l'une des revendications 1 à 5, **caractérisé en ce que** l'orifice de distribution d'échantillons (4) est en contact avec une zone de dosage d'échantillons (5) et une zone (7) destinée à l'excédent d'échantillon, entre la zone de dosage d'échantillons (5) et la zone (7) destinée à l'excédent d'échantillon étant présente une butée capillaire (6).

7. Procédé de détection d'un analyte dans un échantillon liquide, lors duquel

   - on introduit l'échantillon dans l'orifice de distribution d'échantillons (4) de l'élément d'essai (1) selon l'une des revendications 1 à 6,
   - on fait tourner l'élément d'essai (1), de manière à transporter l'échantillon vers l'extrémité éloignée de l'axe de la zone à activité capillaire (12),
   - on ralentit ou on arrête la rotation de l'élément d'essai (1), de manière à ce que l'échantillon ou une matière obtenue à partir de l'échantillon lors de la traversée de l'élément d'essai (1) soit aspiré(e) de l'extrémité éloignée de l'axe vers l'extrémité proche de l'axe de la zone à activité capillaire (12), et
   - on détecte par voie visuelle ou optique l'analyte dans la zone à activité capillaire (12) ou dans une zone située en aval de celle-ci.

8. Procédé selon la revendication 7, **caractérisé en ce qu'**après la rotation de l'élément d'essai (1), on distribue sur

l'élément d'essai (1) un autre liquide qui est aspiré après l'échantillon de l'extrémité éloignée de l'axe jusqu'à l'extrémité proche de l'axe de la zone à activité capillaire (12).

9. Procédé selon la revendication 7 ou 8, **caractérisé en ce qu'**on ralentit ou on arrête de manière ciblée la migration de l'échantillon liquide et/ou de l'autre liquide à travers la zone à activité capillaire (12) par la rotation de l'élément d'essai (1).

10. Procédé selon l'une des revendications 7 à 9, **caractérisé en ce qu'**on inverse la direction de la migration de l'échantillon liquide et/ou de l'autre liquide à travers la zone à activité capillaire (12) par la rotation de l'élément d'essai (1).

11. Système, destiné à déterminer un analyte dans un échantillon liquide, comportant un élément d'essai (1) selon l'une des revendications 1 à 6 et un instrument de mesure, l'instrument de mesure

- présentant au moins un entraînement pour la rotation de l'élément d'essai (1) et
- une optique d'évaluation pour évaluer le signal visuel ou optique de l'élément d'essai (1).

Fig. 1

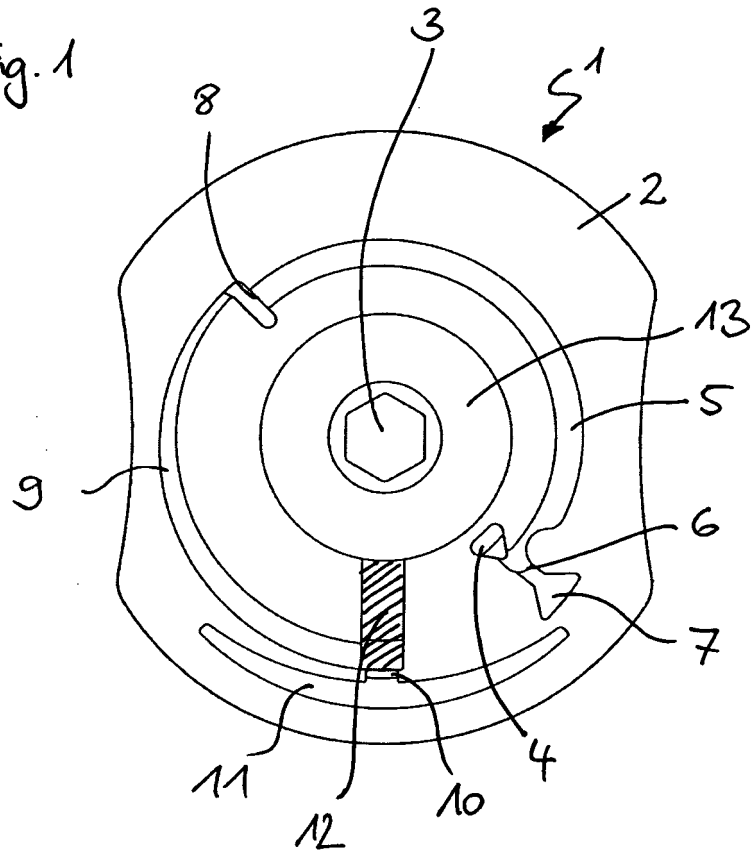


Fig. 2

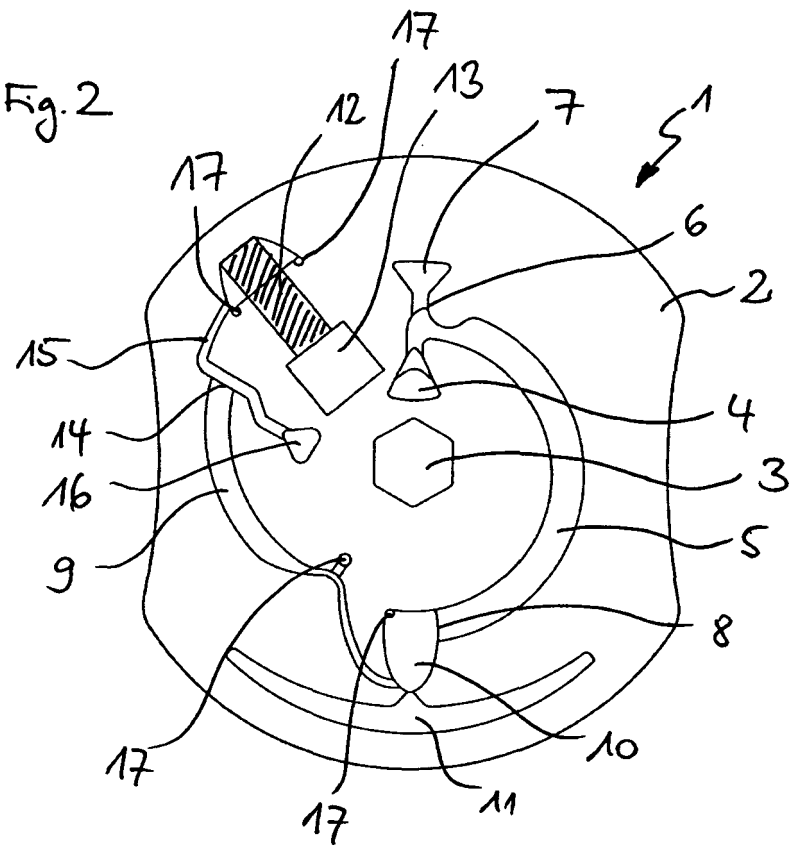


Fig. 3

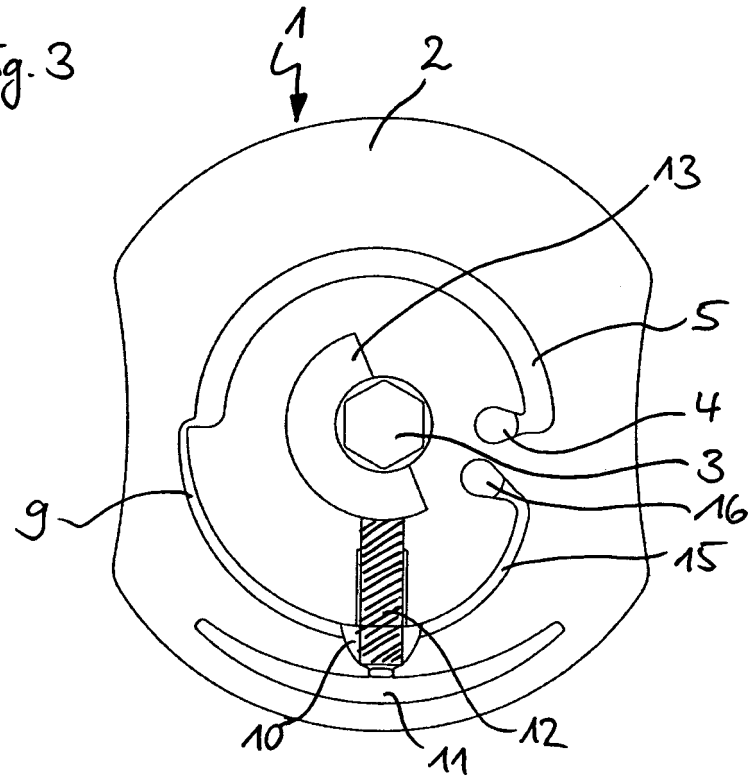


Fig. 4

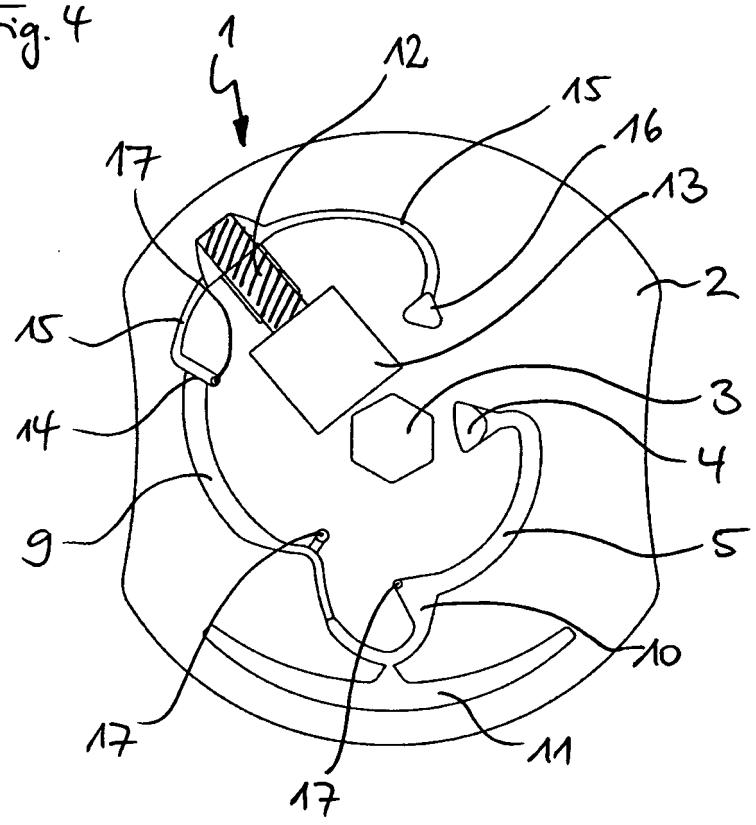


Fig. 5

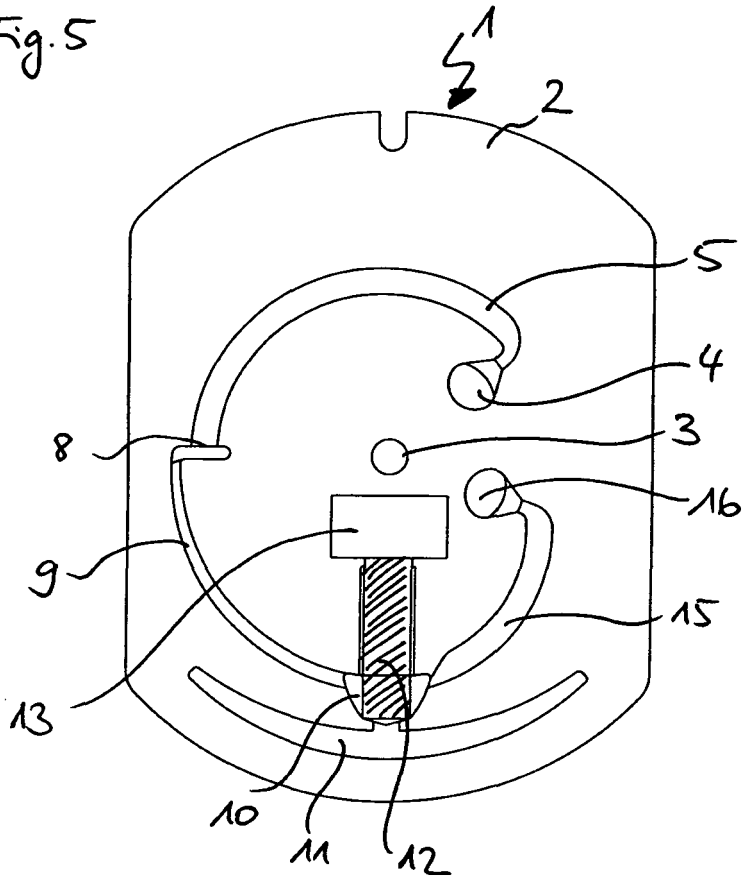


Fig. 6

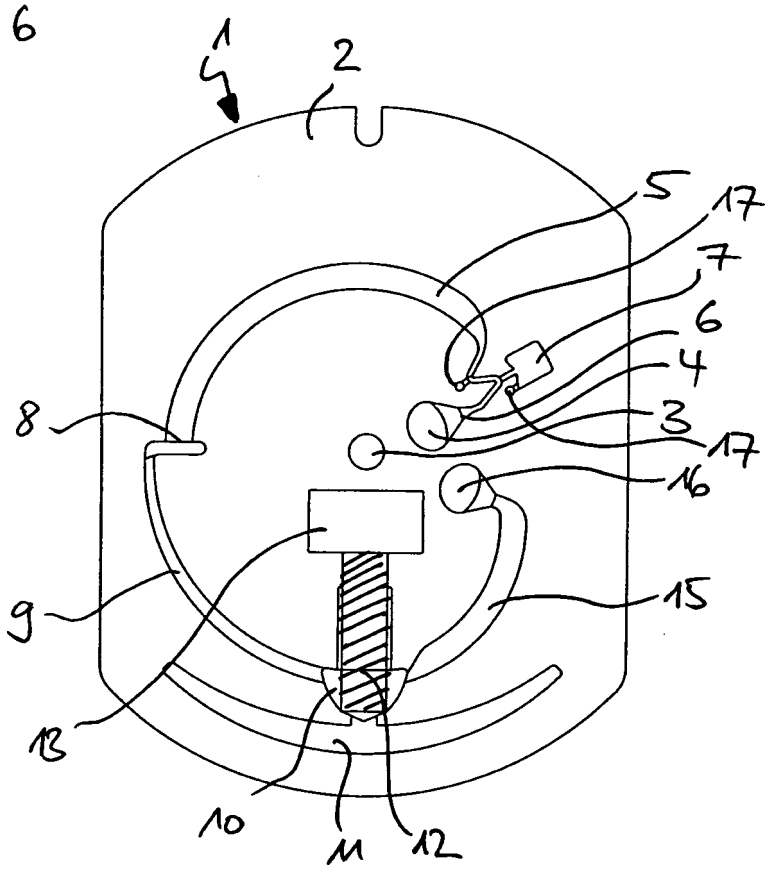


Fig. 7

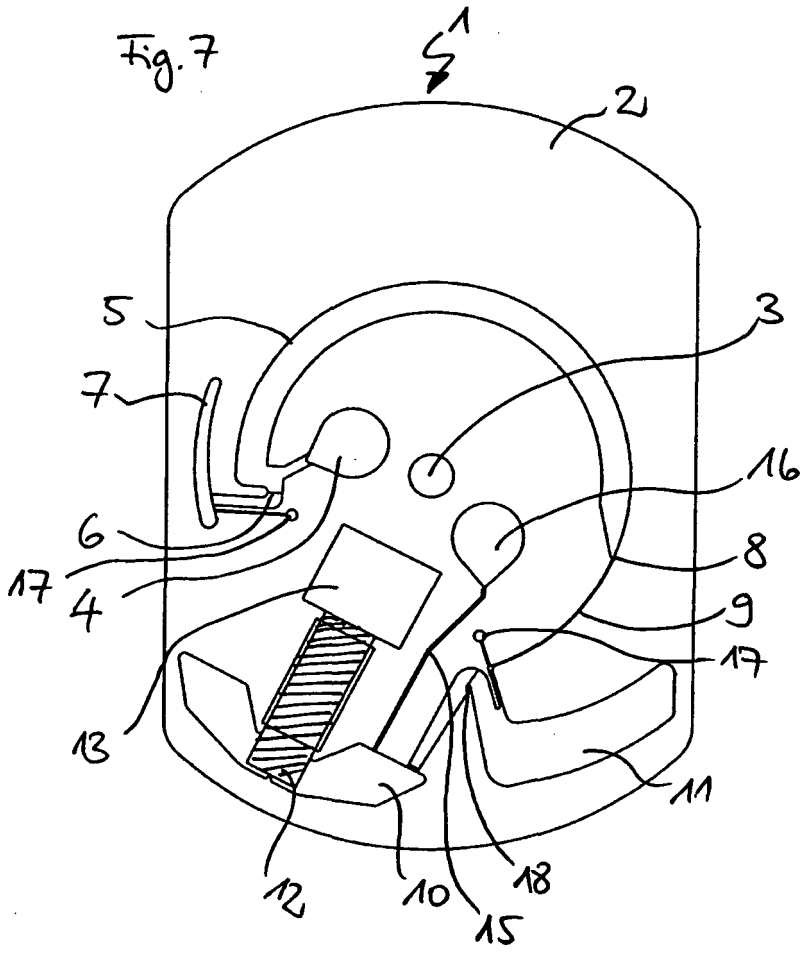


Fig. 8

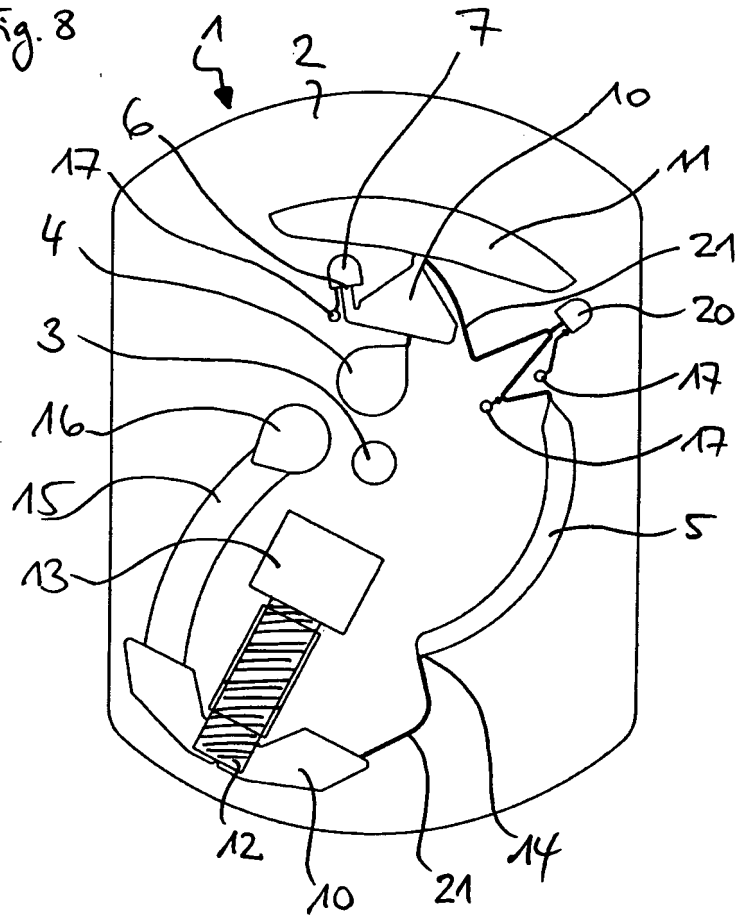
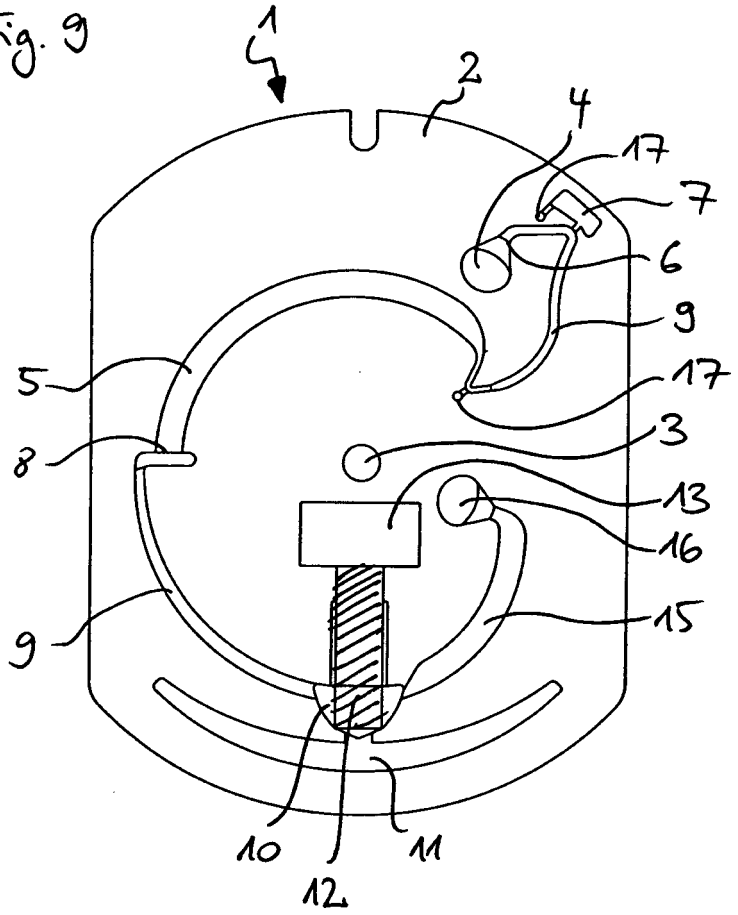


Fig. 9



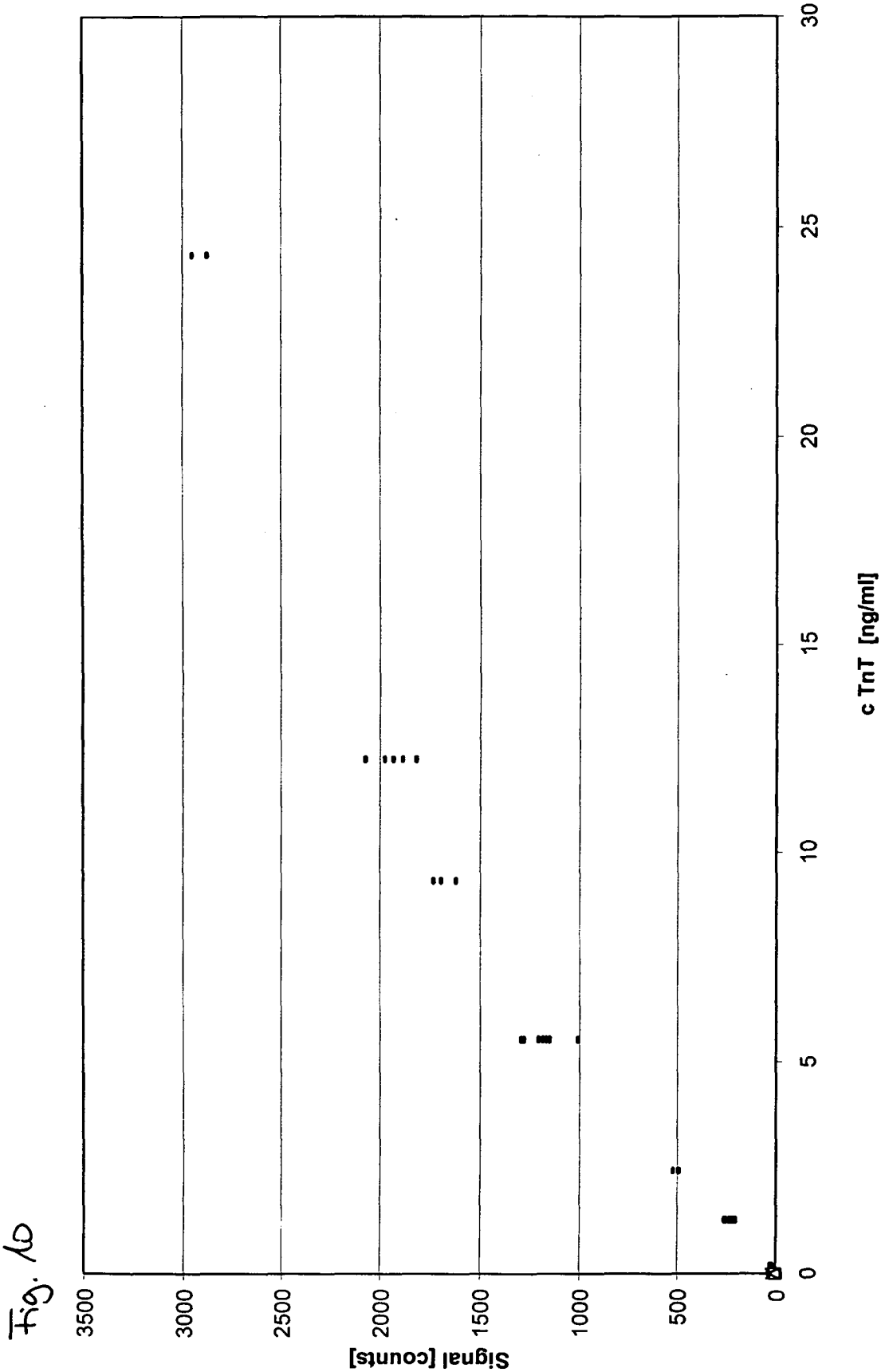

Signal [counts]
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
c TnT [ng/ml]

Fig. 10

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- WO 2005001429 A, Phan **[0006]**
- WO 2005009581 A, Randall **[0007]**
- US 20020076354 A1, Cohen **[0008]**
- US 20050014249 A, Staimer **[0009]**
- US 20050037484 A, Staimer **[0009]**
- US 20040265171 A, Pugia **[0010] [0049]**
- WO 9958245 A, Larsson **[0011]**
- US 5242606 A, Braynin **[0012]**
- US 4861711 A **[0050]**
- US 5061381 A **[0073] [0074]**